

**Zelluläre Immunreaktivität
gegen Yersinia enterocolitica O-Gruppe
I und V bei Patienten mit Yersinia-Arthritis,
Patienten mit M. Bechterew und Kontrollpersonen**

vorgelegt

von

Ingrid Oertel

aus

Amberg



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut und Poliklinik für
klinische Immunologie und Rheumatologie
der Universität Erlangen-Nürnberg,
Vorstand: Prof. Dr. J. R. Kalden
und dem Institut für
Klinische Mikrobiologie und Infektionshygiene
der Universität Erlangen-Nürnberg,
Vorstand: Prof. Dr. W. Knapp

Zelluläre Immunreaktivität
gegen *Yersinia enterocolitica* O-Gruppe I und V
bei Patienten mit *Yersinia*-Arthritis, Patienten
mit M. Bechterew und Kontrollpersonen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ingrid Oertel
aus Amberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. V. Becker

Referent: Prof. Dr. J. R. Kalden

Tag der mündlichen Prüfung: 07.02.1983

Gewidmet

meiner Mutter Irma Oertel

und

meinem verstorbenen Vater Hans Oertel

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Yersinien und Yersiniosen	2
Zelluläre Immunreaktivität peripherer humaner Lymphozyten in vitro	9
Materialien und Methodik	16
a) Patienten	16
b) Antigenpräparationen	18
c) Testmethoden	19
Ergebnisse	24
Diskussion	50
Literaturverzeichnis	58

Einleitung

Bei Patienten mit *Yersinia enterocolitica*-induzierten Arthritiden lagen bislang keine Ergebnisse über die zelluläre Reaktivität peripherer Lymphozyten gegen *Yersinia enterocolitica*-Antigene vor. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, bei Patienten mit einer serologisch gesicherten *Yersinia enterocolitica*-Arthritis unter Verwendung eines Migrations-Inhibitions-Tests (Clausen-Technik) und der in vitro-Stimulation peripherer Lymphozyten die Möglichkeit zu überprüfen, eine zelluläre Reaktivität gegen *Yersinia enterocolitica*-Antigene nachzuweisen.

Da das signifikant gehäufte Auftreten von HLA-B 27 ebenso wie bei M. Bechterew (1, 2, 3) und anderen seronegativen Arthropathien auch bei der Arthritis durch *Yersinia enterocolitica* (4, 5) seit längerer Zeit bekannt ist, sollte durch vergleichende Untersuchungen an Patienten mit M. Bechterew und Gesunden als Kontrollen eine Korrelation der zellulären Immunreaktion mit dem Vorhandensein von HLA-B 27 überprüft werden.

Yersinien und Yersiniosen

Als Yersiniosen bezeichnet man die beim Menschen durch Infektion mit *Yersinia enterocolitica* bestimmter Serogruppen, *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia pestis* ausgelösten Krankheitsbilder (3). Zu enteralen Yersiniosen führen nur die beiden erstgenannten Spezies.

Die Krankheitserreger

Die Gattung *Yersinia* innerhalb der Familie der Enterobacteriaceae umfaßt nach Beyey's Manual (1974) die Spezies *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*. Weitere Spezies wie *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. vuckeri* und *Y. philomiragia* werden zur Diskussion gestellt (7).

Bei *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* handelt es sich um gramnegative, nicht sporenbildende Stäbchenbakterien, die im Darm warm- und kaltblütiger Tiere vorkommen (9).

Y. pseudotuberculosis ist ein kurzes, häufig ovoides, sich bipolar anfärbendes Stäbchenbakterium mit peritricher Begeißelung.

Y. enterocolitica weist eine Neigung zum Pleomorphismus auf. Dies soll von der Zusammensetzung des jeweiligen Kulturmediums und dem Alter des Bakteriums abhängig sein (6). Die Entwicklung von Geißeln und damit die Beweglichkeit des Bakteriums sind temperaturabhängig (6).

Auf *Y. pestis* und die "neuen" *Yersinia*-Spezies ist im Rahmen dieser Arbeit nicht einzugehen.

Einteilung in Serotypen

Bei *Y. pseudotuberculosis* werden serologisch die sechs verschiedenen O-Gruppen I - VI unterschieden. Der Nachweis von Subtypen und der verschiedenen Gei-

Belantigene hat vor allem epidemiologische Bedeutung. Differentialdiagnostisch wichtig sind dagegen zum Nachweis bzw. Ausschluß der enteralen Yersiniosen die partialantigenen Beziehungen zwischen *Y. pseudotuberculosis* Typ II bzw. IV mit Salmonellen der B- und D-Gruppen und zwischen Typ VI und *E. coli* O-Gruppe 55 (8).

Bei der Einteilung von *Y. enterocolitica* in Serotypen gibt es bis heute kein international gültiges einheitliches Schema. Bislang fehlt eine allgemein anerkannte Definition, welche kulturell-biochemischen Eigenschaften als speziesspezifisch anzusehen sind (8, 6, 10, 11). Die beiden am häufigsten verwendeten Einteilungen sind das Antigenchema nach Winblad und Wauters und das am Institut für klinische Mikrobiologie und Infektionshygiene der Universität Erlangen verwendete Schema nach Knapp und Thal (12). Letzteres unterscheidet sechs C-Gruppen I bis VI, wobei eine serologische Kreuzreaktion zwischen Stämmen der C-Gruppe V und *Brucella abortus/melitensis/suis* differentialdiagnostisch wichtig ist (8).

Bakteriologische und serologische Diagnostik

a) Erregernachweis

Die sicherste Diagnose einer Infektion mit *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* ermöglicht der Erregernachweis, der nach Erregerart und dem jeweiligen Krankheitsbild aus Stuhl, Lymphknoten, Appendix, Eiter, Abstrichen, Gelenkpunktaten (selten), Erbrochenem (selten) oder Blut (bei Septikämien) versucht werden soll (8, 9, 13). Die Isolierung und kulturell-biochemische Differenzierung erfolgt mit Untersuchungsmethoden, die auf der Salmonella- und Shigella-Diagnostik basieren. Mit dem "Kälteanreicherungsverfahren" ist im Einzelfall eine Erfassung geringer Keimzahlen möglich. Im Gegensatz zu

anderen Enterobacteriaceae vermehren sich *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* auch bei Kühlschranktemperaturen (2 - 6° C) (7, 8).

b) Antikörpernachweis

Die Methode der Wahl für den Nachweis von Antikörpern gegen *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* ist die Agglutinationsreaktion (Widal-Reaktion) mit OH- und O-Antigenen. Als verdächtig gelten Agglutinin-titer ab 1 : 40, wenn sie gleichzeitig mit O- und OH-Antigenen nachgewiesen werden. Allein mit OH-Antigenen nachgewiesene Titer gelten ab 1 : 80 als verdächtig und ab 1 : 160 als signifikant (14).

Epidemiologie der enteralen Yersiniosen

Die Erregerreservoirre und Übertragungswege der für den Menschen pathogenen Stämme von *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* sind noch nicht bekannt. Als wichtige Infektionsquellen gelten für *Y. enterocolitica* gesunde und kranke Schweine, Hunde, Katzen und Nahrungsmittel tierischer Herkunft, für *Y. pseudotuberculosis* Nager, Katzen und Vögel (7, 17).

Das Auftreten von Erkrankungen bei mehreren Personen nach Genuß des gleichen Nahrungsmittels (15) und innerhalb eines Krankenhauses (16) wird berichtet. Bisher konnte jedoch bei keiner Einzel- oder Gruppen-, Familien-, Schul- oder Hospitalinfektion die gesamte Infektkette geklärt werden. Bei *Y. enterocolitica* gelten möglicherweise für Mensch und Tier die gleichen Infektionsquellen wie bei anderen Saproneisen (7).

Eine geographische Verteilung wird vor allem bei *Y. enterocolitica* beobachtet. Infektionen mit O-Gruppe I und V werden hauptsächlich in Europa diagnostiziert. O-Gruppe VI findet man fast nur in den USA (8, 9).

Klinische Verlaufsformen

Der am häufigsten betroffene Manifestationsort von *Yersinia enterocolitica*-Infektionen beim Menschen ist der Gastrointestinaltrakt (9, 13, 17, 18, 19). Es treten akute Enteritiden und Enterokolitiden mit kolikartigen Bauchschmerzen, Diarrhoen und Fieberschüben auf. Derartige Verlaufsformen werden vor allem bei Kindern von 0 bis 10 Jahren und bei Erwachsenen ab 30 Jahren beobachtet. Pseudoappendizitische Verlaufsformen mit dem Defund einer mesenterialen Lymphadenitis oder einer akuten terminalen Ileitis werden hauptsächlich bei Patienten im Alter zwischen 10 und 30 Jahren gefunden (9). Septikämien mit einer Mortalität von ca. 50 Prozent werden als schwere Komplikationen bei resistenzgeminderten Patienten beobachtet (z. B. bei Diabetes, Leukämie, immunsuppressiver Therapie) (9). Als Begleit- oder Folgeerscheinungen dieser intestinalen Infektionen findet man Hauterscheinungen (Erythema nodosum, Erythema exsudativum multiforme) (20, 21) und die erstmals 1969 in Finnland beschriebene Arthritis (22).

Yersinia-Arthritis

(In der vorliegenden Arbeit wird unter "Yersinia-Arthritis" eine reaktive Arthritis nach Infektionen mit *Yersinia enterocolitica* O-Gruppe I und V verstanden.)

Die durch *Y. enterocolitica* induzierten Arthritiden treten in der Regel innerhalb der ersten ein bis zwei Wochen nach Beginn der abdominellen Symptomatik, manchmal auch gleichzeitig mit dieser auf (23, 24). Befallen werden große und kleine Gelenke, häufig bilateral, selten symmetrisch (14). Beschrieben wird ein bevorzugter Befall der gewichttragenden großen Gelenke der unteren Extremitäten (24). Die Beschwer-

den springen vielfach von Gelenk zu Gelenk. Länger anhaltende Beschwerden werden ebenso wie neue Schübe nach symptomfreien Intervallen beobachtet (14). Dabei bestehen die Gelenkbeschwerden in Schmerzen, Schwellungen und z. T. auch Ergußbildung (14, 23, 24). Als Begleiterscheinungen können Iritiden und Conjunctivitiden (23, 26), Carditiden (24) und flüchtige Pharyngitiden (23, 24) auftreten.

Als bevorzugt befallen wurde die Altersgruppe zwischen 10 und 40 Jahren angegeben (14), doch scheint auch ein Auftreten im Kleinkindesalter möglich zu sein (25).

In den meisten Fällen heilen Arthritiden nach Infektionen mit *Y. enterocolitica* innerhalb weniger Wochen oder Monate folgenlos aus. Durch eine am Institut für klinische Immunologie und Rheumatologie der Universität Erlangen durchgeführte Studie konnte jedoch die Möglichkeit der Chronifizierung aufgezeigt werden (Pintag, Kalden).

Arthritiden treten nach Infektionen durch *Y. enterocolitica* (O-Gruppe I und V) häufiger auf als bei *Y. pseudotuberculosis*-Infektionen (14).

1974 wurde von K. Aho und Mitarbeitern erstmals das gehäufte Vorkommen von HLA-B 27 bei Patienten mit *Y. enterocolitica*-induzierten Arthritiden beschrieben (4). In dieser Arbeit wird berichtet, daß in 43 Fällen von insgesamt 49 untersuchten Patienten mit *Yersinia*-Arthritis das Vorhandensein von HLA-B 27 nachgewiesen werden konnte. Dagegen war HLA-B 27 nur bei 3 von 20 Patienten mit *Yersiniosen* ohne Gelenkbeteiligung und in ca. 14 Prozent der finnischen Normalbevölkerung nachweisbar.

In einer anderen Arbeit von O. Laitinen und Mitarbeitern wird das Vorhandensein von HLA-B 27 bei 66 Prozent der untersuchten Patienten mit *Yersinia*-Arthritis beobachtet (26). Zusätzlich wird hier in der Gruppe der HLA-B 27-positiven Patienten ein schwererer Verlauf der Gelenksymptomatik sowie ein gehäuftes

Auftreten von Iritiden, Conjunctivitiden, Carditiden und Harnwegsinfekten gegenüber der HLA-B 27-negativen Gruppe beschrieben.

HLA-B 27 und rheumatische Erkrankungen

Die Yersinia-induzierte Arthritis ist nicht die einzige Gelenkerkrankung, bei der ein gehäuftes Auftreten von HLA-B 27 beobachtet wurde.

Auch bei Arthritiden nach Infektionen mit Salmonellen und Shigellen, sowie bei M. Reiter ist in einem erheblichen Prozentsatz der Fälle dieses HLA-Antigen vorhanden. Bei Psoriasis arthropathica und bei seronegativer peripherer Arthritis konnte HLA-B 27 zwar ebenfalls häufiger als bei gesunden Kontrollen nachgewiesen werden, der Zusammenhang ist hier jedoch weniger deutlich, doch auch signifikant (27).

Hochsignifikant ist die Assoziation zwischen der ankylosierenden Spondylitis (M. Bechterew) und HLA-B 27. So beschrieben Schlosstein und Mitarbeiter das Vorhandensein von HLA-B 27 bei 88 Prozent der von ihnen untersuchten Patienten mit M. Bechterew gegenüber einem Auftreten bei 8 Prozent der gesunden Kontrollen (3). Brewerton und Mitarbeiter konnten HLA-B 27 bei 72 von 75 M. Bechterew-Patienten (96 Prozent) und bei 3 von 75 Kontrollen (4 Prozent) nachweisen (2). Auch Caffrey und James beobachteten das Vorkommen von HLA-B 27 bei 96 Prozent der von ihnen untersuchten Bechterew-Fälle (1).

Bis heute konnte noch keine gesicherte Erklärung für den Mechanismus gefunden werden, der bei den Trägern eines bestimmten HLA-Antigens zur gehäuften Manifestation bestimmter Erkrankungen führt. Diejenigen HLA-assoziierten Krankheiten, deren Verursacher bekannt ist (wie z. B. die Yersinia enterocolitica-induzierte Arthritis), bieten die Möglichkeit an, zu untersuchen, ob die Reaktion gegen den Krankheitserreger abhängig vom Vorhandensein des je-

weiligen HLA-Antigens ist.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde deshalb die zelluläre Immunreaktivität peripherer humaner Lymphozyten gegen Antigenpräparationen von *Yersinia enterocolitica* bei Patienten mit *Yersinia enterocolitica*-induzierter Arthritis und im Vergleich dazu bei Patienten mit M. Bechterew und bei gesunden Kontrollen geprüft.

Die von uns verwendeten Möglichkeiten, die zelluläre Immunreaktion zu untersuchen, werden im Folgenden besprochen.

Zelluläre Immunreaktivität peripherer humaner Lymphozyten in vitro

Periphere Lymphozyten können durch folgende verschiedene Substanzen aktiviert werden:

1. Mitogene

Es handelt sich dabei um Stoffe meist pflanzlicher Herkunft, die ohne vorausgegangene Sensibilisierung Lymphozyten dazu anregen, sich in proliferierende Blasten umzuwandeln und sich zu teilen. Diese Wirkung wurde zuerst an Phytohämagglutinin (PHA), einem Extrakt aus der Pohnne Phaseolus vulgaris, beobachtet (28). Weitere Mitogene sind z. B. Concanavalin A (Con A) und Pokeweed Mitogen (PWM). PHA und Con A wirken weitgehend, aber nicht absolut spezifisch auf T-Zellen, PWM wirkt vorwiegend auf B-Lymphozyten (29).

2. Antigene

Eine Stimulation peripherer Lymphozyten durch Antigene setzt eine bei einem früheren Kontakt erfolgte Sensibilisierung voraus. Die Möglichkeit, die Proliferation peripherer Lymphozyten durch Antigene auszulösen, wurde bei Untersuchungen mit Tuberculin an Lymphozyten Tuberculin-positiver Testpersonen zuerst festgestellt (30).

3. Allogene Zellen

Eine Aktivierung peripherer Lymphozyten kann auch durch den Kontakt mit Zellen eines Individuums mit unterschiedlichem HLA-Muster, insbesondere verschiedenen HLA-D-Antigenen, ausgelöst werden (31).

Die Immunantwort stimulierter Lymphozyten zeigt sich in verschiedenen Reaktionen, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach erfolgter Aktivierung beobachtet werden können. Die am frühesten meßbare Reaktion ist die Produktion von Lymphokinen. Es folgt die Lymphozyten-Proliferation, schließlich kommt es zur Bildung von

Antikörpern und zur Entstehung von zytotoxisch wirksamen Zellen.

Abbildung 1 stellt die ungefähre zeitliche Reihenfolge der Immunreaktionen dar, die eine erfolgte Lymphozyten-Aktivierung anzeigen (32).

Abb. 1

Zelltyp	T	B	T	B	Zeitdauer nach Stimulation (h)
Lymphokin-synthese					0 - 24
Blasten-transformation					24 - 48
Lymphozyten-proliferation					48 - 72
Antikörper-bildung					72 - 96
Cytotoxizität					96 - 144

Wir verwendeten bei unseren Untersuchungen den sogenannten Lymphozyten-Transformations-Test zur Messung der Lymphozyten-Proliferation und einen Migrations-Inhibitions-Test (Clausen-Technik) zur Messung der Produktion eines Lymphokins, des sogenannten Migrations-Inhibitions-Faktors (MIF).

Aus der obigen Abbildung geht hervor, daß sowohl T- als auch B-Lymphozyten nach geeigneter Stimulation in vitro proliferieren und daß auch beide Zelltypen Lymphokine produzieren.

Lymphozyten-Proliferation

Wird ein Lymphozyt unter geeigneten Kulturbedingungen durch den Kontakt mit einem Mitogen oder Antigen zur Proliferation angeregt, so treten an verschiedenen Zellstrukturen Veränderungen auf. Beobachtet wird an der Zellmembran eine Ladungsänderung ebenso wie ein gesteigerter Phospholipidumsatz. Die Adenylcyclase wird aktiviert, woraus ein Anstieg des intrazellulären cAMP resultiert. Schon wenige Minuten nach erfolgter Aktivierung wird ein gesteigerter Molekültransport durch die Zellmembran beobachtet. Auch der Natrium- und Kalium-Ionen-Austausch sowie der Calcium-Einstrom nehmen zu, wahrscheinlich bedingt durch einen Aktivitätsanstieg der jeweils zugehörigen ATP-ase. Eine vermehrte Bildung von pinocytotischen Vakuolen tritt ebenfalls auf.

Die aktivierte Zelle verändert sich auch morphologisch. Sie nimmt an Größe zu, wird basophil und pyroninophil. Eine Vermehrung der Lysosomen und Polyribosomen wird beobachtet.

Lysosomale Enzyme werden vermehrt in das Cytoplasma abgegeben. Die Aktivität dieser Enzyme nimmt zu.

Eine Steigerung des Lipid- und des Kohlenhydrat-Stoffwechsels kann ebenso wie eine Zunahme der Proteinsynthese festgestellt werden. Die RNS-Synthese ist ebenfalls gesteigert, möglicherweise durch eine Induktion der reversen Transkriptase.

Im Zellkern vollzieht sich ein Wechsel von Heterochromatin zu Euchromatin mit prominenten Nucleoli.

Die DNS-Synthese wird aufgenommen, es kommt zum Eintritt der Zelle in die Mitose-Phase und zur Zellteilung. Die DNS-Synthese erreicht ihren Höhepunkt zwischen 48 und 72 Stunden nach erfolgter Stimulation (33).

Wie allgemein üblich wurde auch bei unseren Untersuchungen die DNS-Synthese als Marker der erfolgten Lymphozyten-Stimulation verwendet. Um das Ausmaß der

DNS-Synthese messen zu können, wird 48 Stunden nach Beginn der Aktivierung, also zum Zeitpunkt des Eintritts in die Phase der maximalen DNS-Synthese, dem Testansatz Tritium-markiertes Thymidin zugefügt. Dieses wird als Nucleosid in die neugebildete DNS eingebaut. Die Rate des ^3H -Thymidin-Einbaus und damit das Ausmaß der DNS-Neusynthese wird nach insgesamt 72 Stunden durch β -Szintillationsmessung bestimmt (34).

Produktion des Migrations-Inhibitions-Faktors (MIF)

Wie schon erwähnt, werden in der Initialphase der Lymphozyten-Aktivierung Lymphokine, die sogenannten Mediatoren der zellulären Immunität, gebildet. Es handelt sich dabei um lösliche Substanzen, die von stimulierten Lymphozyten sezerniert werden und mittels ihrer biologischen Aktivität das Verhalten von Makrophagen, polymorphkernigen Leukozyten und anderen Lymphozyten beeinflussen. Wieviele chemisch differenzierbare Lymphokine es tatsächlich gibt, ist bis heute nicht bekannt.

Der am längsten bekannte Mediator ist der Migrations-Inhibitions-Faktor. Bereits 1932 zeigten Rich und Lewis, daß Tuberkulin die Migration der Zellen Tuberkulin-positiver Tiere in vitro hemmt (35). Bloom und Bennett erkannten, daß die Lymphozyten dafür verantwortlich sind, daß eine Migrations-Hemmung bewirkt wird, während Makrophagen und Granulozyten nur als Indikatorzellen dienen, an deren Migrationsbereichen im Kulturmedium das Ausmaß der Migrations-Inhibition festgestellt werden kann. In der gleichen Arbeit wird berichtet, daß nach Kontakt spezifisch sensibilisierter Lymphozyten mit dem jeweiligen Antigen eine lösliche Substanz aus dem Kulturmedium isoliert werden konnte, die die Migration normaler Makrophagen hemmt (36). Diese Substanz wurde dann

als Migrations-Inhibitions-Faktor (MIF) bezeichnet.

Beim menschlichen MIF handelt es sich um ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 25.000. Er ist hitzestabil bei 56° C. Während der MIF durch eine enzymatische Behandlung mit Trypsin oder Chymotrypsin inaktiviert wird, lassen RNase und DNase seine Aktivität unbeeinflusst. Durch eine Neuraminidase-Behandlung wird menschlicher MIF im Gegensatz zu Meerschweinchen-MIF ebenfalls nicht inaktiviert. Wirken Puromycin, ein Hemmstoff der de novo Proteinsynthese, oder Actinomycin D, ein Inhibitor der DNS-abhängigen RNS-Synthese, auf den stimulierten Lymphozyten ein, so wird die MIF-Synthese blockiert. Diese Beobachtungen erbrachten den Nachweis der aktiven Synthese des MIF durch die Zellen. Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, daß MIF aus zwei verschiedenen Molekülspezies mit unterschiedlichem isoelektrischen Punkt besteht. Weiterhin wurde beobachtet, daß eine dieser Molekülspezies durch Makrophagen-assoziierte Esterasen inaktiviert wird. Durch diese Beobachtung wird ein möglicher Kontrollmechanismus vorstellbar, durch den die Targetzellen den Mediator beeinflussen können (37).

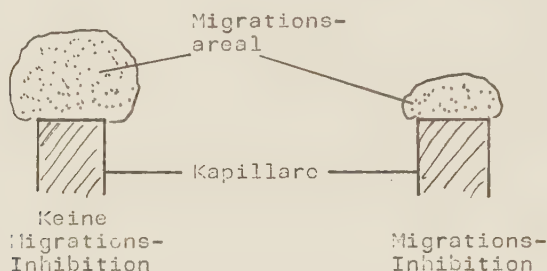
Um die Produktion des MIF anhand des Ausmaßes der Migrations-Inhibition meßbar zu machen, wurde zunächst von George und Vaughan (38) die sogenannte Capillary-tube-Technik entwickelt. Diese Technik wurde von David und Mitarbeitern weiterentwickelt (39) und 1967 von Sjöberg und Bendixen erstmals auch zur Demonstration zellvermittelter Immunität beim Menschen verwendet (40).

Bei dieser Technik werden Zellen in Kapillarröhrchen gefüllt, die dann in Kulturkammern inkubiert werden. Die Kammern enthalten Medium mit oder, als Kontrolle, ohne Antigen. Während einer Inkubation von 18 bis 24 Stunden Dauer bei 37° C wandern die Zellen aktiv aus der Kapillare in das umgebende Medium. Dabei wandern spezifisch sensibilisierte Zellen in Anwesenheit des

Antigens weniger weit als nicht sensibilisierte Zellen. Das Migrationsareal kann planimetrisch gemessen werden. Die Migrations-Inhibition wird durch den Vergleich von Zellmigration in Anwesenheit von Antigen zu Zellmigration ohne Anwesenheit von Antigen bestimmt.

Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung von nicht inhibierter und inhibierter Zellmigration in der Capillary-tube-Technik.

Abb. 2



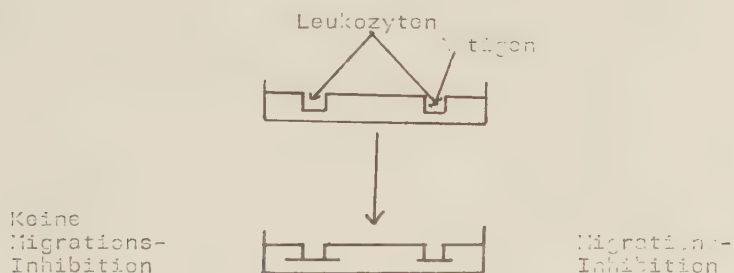
Nachdem Carpenter durch Verwendung eines Agar-Mediums eine Steigerung der Zellmigration erzielen konnte (41), entwickelte J. E. Clausen 1971 die sogenannte Leukozyten-Migrations-Agarose-Technik (LMAT), die dann später auch als Clausen-Technik bezeichnet wurde (42).

Bei dieser Technik wird Agarose-Medium in Petri-Schalen gefüllt. Nach Erstarren des Agars werden Löcher ausgestanzt. In diesen Löchern werden die Zellen zusammen mit oder ohne Antigen inkubiert. Während der 18- bis 24stündigen Inkubationszeit wandern die Zellen in den Spalt zwischen dem Agar und dem Boden der Petri-Schale. Es ergeben sich kreisförmige Migrationsareale, deren Durchmesser leicht gemessen werden kann. Auch bei dieser Technik wird die Migrations-Inhibition aus dem Verhältnis von Migration in Anwesenheit von Antigen zu Migration ohne Anwesenheit von Antigen be-

stimmt. Im Vergleich zur Capillary-tube-Technik wurden bei Versuchen mit Tuberkulin mit der Clausen-Technik höher signifikante Ergebnisse erzielt (43).

Abbildung 3 zeigt eine schematische Darstellung von nicht inhibierter und inhibierter Zellmigration in der Clausen-Technik.

Abb. 3



Materialien und Methodik

Patienten

Folgende Personengruppen wurden untersucht:

- a) 12 Patienten mit serologisch gesicherter *Yersinia enterocolitica*-Arthritis (8 männlich, 4 weiblich) im Alter zwischen 18 und 41 Jahren (Durchschnittsalter 29,2 Jahre).

Die Laboratoriumsdiagnostik wurde im Institut für klinische Mikrobiologie und Infektionshygiene der Universität Erlangen durchgeführt. In einem Fall gelang es, *Y. enterocolitica* O-Gruppe I im Stuhl nachzuweisen. (Die Erregerisolierung aus Stuhl erfolgt mit in der Salmonella- und Shigelladiagnostik bewährten Methoden, gegebenenfalls auch mit der Langzeitkälteanreicherung bei 2 - 4° C. Siehe auch S. 3/4.)

Bei allen 12 Patienten wurden Antikörper gegen *Y. enterocolitica* O-Gr. I bzw. V nachgewiesen. (Der Antikörpernachweis erfolgt mit der Röhrchenagglutination, der sogenannten Widal-Reaktion, mit OH- und O-Antigenen. Als OH-Antigene werden lebende oder mit Formalin abgetötete und als O-Antigene gekochte oder autoklavierte Bakterien-suspensionen der bei 22 bis 28° C gezüchteten Kulturen von *Y. enterocolitica* verwendet.

Als signifikant gelten bei Ausschluß unspezifischer Reaktionen und serologischer Kreuzreaktionen allein mit OH-Antigenen nachgewiesene Titer ab 1 : 160, mit O- und OH-Antigenen gleichzeitig erfaßte Titer ab 1 : 40 (O-Ag) und 1 : 80 (OH-Ag) oder ein bei wiederholten Agglutinin-titerbestimmungen nachgewiesener vierfacher Titeranstieg bzw. -rückgang. Über einen längeren Zeitraum bei Wiederholungsuntersuchungen fehlende OH-Titerbewegungen schließen eine aetiologische Aussage aus.

Das Maximum der Agglutinititer wird in der Regel in der 2. bis 3. Krankheitswoche erreicht oder schon überschritten.)

Die Antikörper-Titer der untersuchten Patienten gegen *Y. enterocolitica* O-Gr. I bzw. V zum Zeitpunkt der akuten Infektion sind in Tabelle 1 aufgeführt. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren noch bei 9 Patienten Antikörper nachweisbar. Zwischen akuter Infektion und Untersuchung lagen Zeiträume von 2 Monaten bis 7 Jahren (durchschnittlich 2 Jahre und 7 Monate).

9 der 12 Patienten waren Träger von HLA-B 27.

Tabelle 1:

Antikörper-Titer der Patienten mit *Y. enterocolitica*-induzierter Arthritis zum Zeitpunkt der akuten Infektion

Patient	Y. e. O-Gr. I OH-Ag	Y. e. O-Gr. I O-Ag	Y. e. O-Gr. V OH-Ag	Y. e. O-Gr. V O-Ag
1	1: 160	-	-	-
2	1: 160	1: 40	-	-
3	1: 160	1: 40	-	-
4	1: 160	1: 40	-	-
5	1: 640	-	-	-
6	1: 640	1: 80	-	-
7	1: 640	1: 80	-	-
8	1: 1280	1: 40	-	-
9	1: 2560	1: 320	-	-
10	1: 2560	1: 1280	-	-
11	1:10240	1: 2560	-	-
12	-	-	1: 160	-

- b) 13 Patienten mit anderen HLA-B 27-assoziierten Gelenkerkrankungen (12 männlich, 1 weiblich) im Alter zwischen 14 und 62 Jahren (Durchschnittsalter 35 Jahre). Die Gelenkerkrankungen umfaßten 11 Fälle von M. Bechterew, 1 Fall von M. Reiter und 1 Fall von peripherer Arthritis. Bei 12 der 13 Patienten war HLA-B 27 nachweisbar.
- c) 13 gesunde Kontrollpersonen (3 männlich, 10 weiblich) im Alter zwischen 22 und 50 Jahren (Durchschnittsalter 30,8 Jahre). Bei den Personen dieser Gruppe waren keine Antikörper gegen *Yersinia enterocolitica* nachgewiesen worden.

Antigenpräparationen

Folgende Antigenpräparationen wurden uns von Herrn Prof. Dr. W. Knapp, dem Vorstand des Instituts für klinische Mikrobiologie und Infektionshygiene der Universität Erlangen, zur Verfügung gestellt:

1. *Yersinia enterocolitica* Ye 75

(O-Gruppe I, syn. Serotyp O:3)

- a) OH-Antigen: 22° C-Kultur auf TS-Schräggagar-röhrchen (20 h)
(TSA = Tryptic Soy Agar);
Abtötung der mit Phosphatpuffer abgeschwemmten Bakteriensuspension im Wasserbad bei 60° C (2 h).
- b) O-Antigen: 22° C-Kultur auf TS-Schräggagar-röhrchen (20 h);
Abtötung der mit Phosphatpuffer abgeschwemmten Bakteriensuspension im Dampftopf bei 100° C (24 h).

Die Antigenpräparationen 1a und 1b wurden in allen Versuchen in folgenden Konzentrationen eingesetzt:

- 2,4 x 10⁸ Keime/ml,
2,4 x 10⁶ Keime/ml,
2,4 x 10³ Keime/ml.

2. Yersinia enterocolitica Ms 777

(C-Gruppe V, syn. Serotyp C:3)

a) OH-Antigen: Antigenpräparation wie unter 1a.

b) O-Antigen: Antigenpräparation wie unter 1b.

Die Antigenpräparationen 2a und 2b wurden in allen Versuchen in folgenden Konzentrationen eingesetzt:

1×10^8 Keime/ml,

1×10^5 Keime/ml,

1×10^3 Keime/ml.

Testmethoden

1. Lymphozyten-Transformations-Test (LTT)

Isolierung der Lymphozyten

40 ml Vetrenblut (1 Teil Vetren (Promonta, Hamburg), 9 Teile venöses Blut) werden in Verhältnis 1 : 3 mit PBS (phosphate buffered saline; pH 7,2; 0,15 M) verdünnt. Die Lymphozyten werden, wie beschrieben (44, 45), über einen Dichtegradienten gewonnen, indem je 30 ml dieser Mischung mit 15 ml Ficoll (Flow Laboratories, Meckenheim b. Bonn) unterschichtet werden und nach einer Zentrifugation von 20 Minuten bei 2000 Upm die Lymphozyten-angereicherte Interphase abgenommen wird. Die Zellen der Interphase werden mit PBS gewaschen (Zentrifugation 10 Minuten bei 2400 Upm). Danach folgt eine 10-minütige Behandlung der Lymphozyten mit 0,83 %igem NH_4Cl , um die übriggebliebenen Erythrozyten zu entfernen. Nach Zentrifugieren des NH_4Cl (10 Minuten bei 1800 Upm) werden die Zellen mit M 199 (Flow Laboratories) gewaschen (10 Minuten bei 1000 Upm). Das Zellsediment wird in wenig M 199 aufgeschwemmt. Zur Zellzählung werden 0,5 Volumenanteile Zellsuspension und 9,5 Volumenanteile Trypanblau in einer Leukozytenpipette vermischt. Die Zählung erfolgt in einer Neubauer-Zählkammer. Anschließend wird die Suspension in M 199

mit 15 % AB-Serum so verdünnt, daß sich eine Konzentration von 2×10^5 Lymphozyten pro 0,1 ml ergibt.

Testansatz

In die Kühlen einer Mikrotiterplatte (Falcon, Mannheim) werden 0,1 ml Lymphozytensuspension (2×10^5 Lymphozyten) gegeben und dazu

- a) 0,1 ml M 199 (Kontrolle),
- b) 0,1 ml PHA in einer Konzentration von 12,5 µg/ml (Wellcome, Großburg-Wedel),
- c) 0,1 ml Antigensuspension.

Die Ansätze erfolgen jeweils in Triplikaten.

Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden bei 37° C in einer Atmosphäre von 5 % CO₂ und 95 % Luft wird in jede Kuhle 1 µCi ³H-Thymidin (Radiochemical Centre, Amersham, G. B.) gegeben. 24 Stunden später werden die Zellen automatisch geerntet (Skatron), mit dest. Wasser gewaschen und auf Filterpapier gesammelt.

Die Filterpapiere werden in Meßröhrchen mit 2 ml Szintillationsflüssigkeit (Aqualuma, Zinser) gegeben. Der Einbau von radioaktivem Thymidin wird in einem Liquid Scintillation Counter für β-Strahlen (LKB, Gräfelfing) gemessen.

Berechnung

Die Berechnung des ³H-Thymidin-Einbaus erfolgt in Δcpm.

$$\Delta \text{cpm} = \text{cpm (Testansatz mit Antigen/Mitogen)} \\ - \text{cpm (Kontrollansatz)}$$

2. Migrations-Inhibitions-Test (Clausen-Technik) (46, 47)

Verwendete Medien:

Medium 1 (Eagle's Dulbecco):

10 ml Dulbecco 10-fach konzentriert
(Flow Laboratories)

- + 7 ml NaHCO_3
- + 2 ml Glutamin
- + 0,5 ml Penicillin-Streptomycin
- ad 100 ml Aqua bidest.

Medium 2:

- entspricht Medium 1
- + 1,8 % PVP (MW 25.000)
 - + 10 I.E. Heparin/ml.

Vorbereitung der Agarose

1,2 g Agarose (Agarose reinst, Serva, Heidelberg) werden in 45 ml Aqua dest. aufgelöst. Die Lösung wird zum Kochen gebracht und mit 45 ml doppelt konzentriertem Medium 1 und 10 ml AB-Serum gemischt. Je 5 ml dieser Agaroselösung werden in eine Petrischale (Durchmesser 5 cm) gegossen. Nach Erstarren des Agars werden die Petrischalen zugedeckt bei 37° C aufbewahrt. Vor der Verwendung werden in jede Petrischale 6 Löcher mit einem Durchmesser von 3 mm gestanzt. Die Agarose wird an jedem Versuchstag frisch angesetzt.

Isolierung der Leukozyten

Je 120 ml Vetrenblut (1 Teil Vetren, 9 Teile venöses Blut) werden im Verhältnis 3 : 1 mit 5-prozentigem Dextran 250 (Sigma, Minden) gemischt. Während einer Inkubationszeit von 45 Minuten bei 37° C sedimentieren die Erythrozyten. Der Überstand, bestehend aus Plasma und Leukozyten, wird in Plastikröhrchen (Kapazität 50 ml, Falcon) gefüllt. Die Zellen werden einmal mit Medium 1 und zweimal mit

Medium 2 gewaschen (Zentrifugation jeweils 7 Minuten bei 200 g) und schließlich in wenig Medium 1 resuspendiert.

Zur Zellzählung werden 0,5 Volumenanteile Zellsuspension und 9,5 Volumenanteile Trypanblau in einer Leukozytenpipette vermischt. Die Zählung erfolgt in einer Neubauer-Zählkammer.

Verdünnung der Zellsuspension

Angestrebt wird eine Konzentration von 2×10^6 Indikatorzellen (Granulozyten + Monozyten) pro 0,01 ml. Da sich jedoch in der Zellsuspension neben den Granulozyten und Monozyten auch Lymphozyten entsprechend dem Zellzahlverhältnis im peripheren Blut befinden (Differentialblutbild) errechnet sich die Verdünnung wie folgt:

z. B. Differentialblutbild ergibt 40 % Lymphozyten und 60 % Granulozyten + Monozyten; Zellzählung ergibt 70×10^6 Leukozyten im Zellsediment.

Zahl der Indikatorzellen: $x = \frac{60 \times 70}{100} = 42;$

$x = 42 \times 10^6$ Indikatorzellen

$42 \times 10^6 : 2 \times 10^6 = 21;$

$21 \times 0,01 \text{ ml} = 0,21 \text{ ml};$

Das Zellsediment muß in 0,21 ml suspendiert werden.

Vorinkubation

Je 0,05 ml der erhaltenen Zellsuspension und 0,02 ml Antigensuspension bzw. 0,02 ml Medium 1 (Kontrolle) werden 60 Minuten bei 37° C inkubiert.

Testansatz

Je 0,015 ml einer solchen vorinkubierten Zell-Antigen-Mischung werden in ein Loch einer Agarplatte gefüllt. Die Ansätze erfolgen in Triplikaten. Anschließend werden die Petrischalen bei 37° C in

einer Atmosphäre von 5 % CO₂ und 95 % Luft inkubiert. Während einer Inkubationszeit von 16 bis 24 Stunden wandern in den Spalt zwischen Agarose und dem Boden der Petrischale.

Auswertung

Nach Beendigung der Inkubationszeit wird die Agarose 10 Minuten mit Methanol und anschließend 30 Minuten mit 40-prozentigem Formalin überschichtet. Die dadurch verfestigte Agarose läßt sich dann leicht aus der Petrischale entfernen. Die auf dem Boden der Petrischale fixierten Zellen werden nach Pappenheim angefärbt. Die Durchmesser der um die Löcher entstandenen Migrationshöfe werden ausgemessen.

Berechnung des Migrationsindex (MI)

$$MI = \frac{\text{Migration mit Antigen}}{\text{Migration ohne Antigen}}$$

Ein MI unter 0,8 wird als signifikante Migrationshemmung gewertet.

Abbildung 4 zeigt ein typisches Ergebnis der Clausen-Technik. Die drei Testansätze rechts zeigen eine ungehemmte Zellmigration, während bei den drei Ansätzen links eine deutliche Migrations-Inhibition feststellbar ist.

Abb. 4



Ergebnisse

1. Lymphozyten-Transformations-Test (LTT)

a) Untersuchungen mit Y. enterocolitica Ye 75 (CH-Antigen)

Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse, in Δcpm , die bei den Versuchen mit dem CH-Antigen von Y. enterocolitica Ye 75 in einer Konzentration von $2,4 \times 10^8$ Keimen/ml im LTT erzielt wurden. Da sich bei den Versuchen mit Y. enterocolitica Ye 75 (CH-Ag) ebenso wie bei denen mit den anderen verwendeten Antigenpräparationen (siehe S. 18/19) nur mit der jeweils höchsten der verwendeten Antigenkonzentrationen nennenswerte Stimulationsraten zeigten, wird hier und in Folgenden auf eine Darstellung der Ergebnisse verzichtet, die sich bei Verwendung der niedrigeren Antigenkonzentrationen ergaben.

Folgende Stimulationswerte in Δcpm wurden gemessen:

Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis:

C, 427, 1190, 5031, 5842, 7793, 8359, 10.200, 12.452,
13.230, 21.174;

$\bar{x} = 7794$;

(Der unterstrichene Wert gehört zu dem Patienten mit Infektion durch Y. e. O-Gr. V, alle übrigen hatten Infektionen durch Y. e. O-Gr. I, siehe Tab. 1)

M. Dechterew-Patienten:

129, 175, 530, 584, 1049, 1650, 1965, 2110, 3719,
4448;

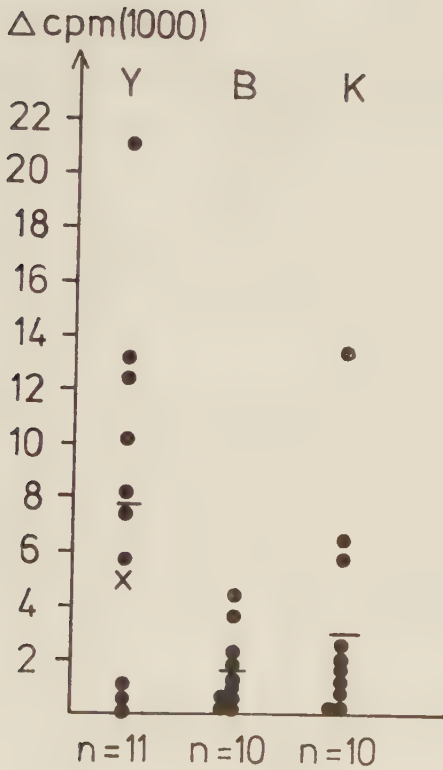
$\bar{x} = 1637$;

Kontrollen:

215, 287, 985, 1267, 1450, 2157, 2867, 5943, 6535,
13.574;

$\bar{x} = 3523$.

Abb. 5



Ergebnisse der Lymphocyten-Stimulation mit *Y. enterocolitica* Ye 75 (OH-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch *Y. enterocolitica* O-Pr. E u. V (Y) (x = Infektion mit *Y. s. O-Pr. V*), H. Blüthenfeld-Patienten (B) und Kontrollen (K). Mittelwerte sind angegeben.

Der statistische Vergleich zwischen den Ergebnissen der Testgruppen wurde nach dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney durchgeführt (48). Dabei ergaben sich die in der folgenden Tabelle 2 aufgeführten Signifikanzniveaus.

Tabelle 2:

Testgruppe 1	Signifikanz-niveau	Testgruppe 2
Y	$\alpha < 0,10$	K
Y	$\alpha < 0,025$	D
D	N. S.	K

N. S. = nicht signifikant. Y,D,K siehe Abb. 5

b) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 75 (C-Antigen)

In der Abbildung 6 werden die Meßwerte dargestellt (in Δcpm), die sich durch die Stimulation peripherer Lymphozyten von Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis, M. Bechterew-Patienten und Kontrollen mit Y. enterocolitica Ye 75 (O-Antigen) ergaben. Dabei wurde eine Konzentration von $2,4 \times 10^8$ Keimen/ml verwendet.

Folgende Stimulationswerte in Δcpm wurden gemessen:

Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis:

567, 2971, 3190, 5332, 6090, 7570, 7900, 9630, 15.483, 21.203, 23.579;

$\bar{x} = 9409$;

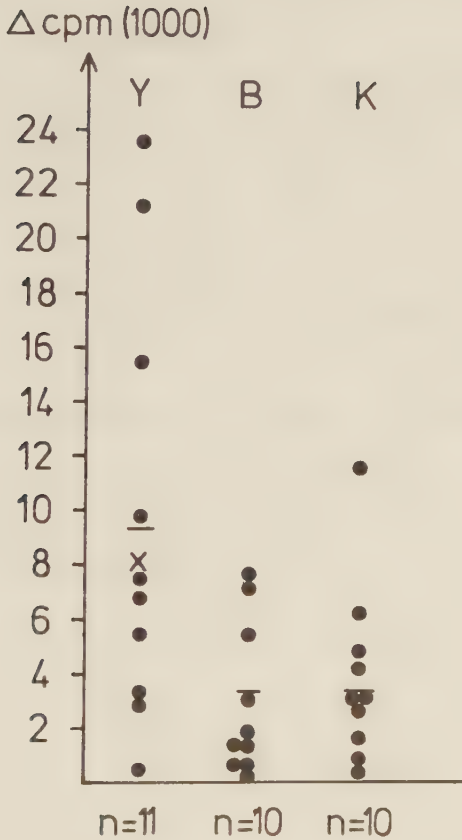
M. Bechterew-Patienten:

0, 448, 910, 1230, 1233, 1428, 3026, 5350, 7159, 7545;
 $\bar{x} = 3434$;

Kontrollen:

349, 660, 1559, 3192, 3341, 3351, 4161, 4875, 6035, 11.560;
 $\bar{x} = 3421$.

Abb. 6



Ergebnisse der Stimulation peripherer Lymphozyten mit *Y. enterocolitica* Ye 75 (O-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. I u. V (Y) (x = Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. V), H. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K). Mittelwerte sind angegeben.

Statistisch (Wilcoxon, Mann, Whitney) ergaben sich zwischen den Testgruppen Unterschiede bezüglich der gemessenen Stimulationsraten mit den in der folgenden Tabelle 3 angegebenen Signifikanzniveaus.

Tabelle 3:

Testgruppe 1	Signifikanz-niveau	Testgruppe 2
Y	$\alpha < 0,05$	K
Y	$\alpha < 0,01$	B
B	N. S.	K

N. S. = nicht signifikant. Y, B, K siehe Abb. 6

c) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 373 (CH-Antigen)

Abbildung 7 zeigt die Meßwerte in Δcpm , die sich durch die Stimulation peripherer Lymphozyten von Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis, M. Bechterew-Patienten und Kontrollpersonen mit dem CH-Antigen von Y. enterocolitica Ye 373 ergaben. Die Versuche wurden mit einer Konzentration von 1×10^6 Keimen/ml durchgeführt.

Folgende Stimulationswerte in Δcpm wurden gemessen:

Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis:

575, 1164, 1465, 5786, 6883, 7673, 9423, 14.346,
10.115, 23.382;

$\bar{x} = 8931$;

M. Bechterew-Patienten:

0, 1034, 1466, 1926, 2057, 2568, 3252, 5699, 6036,
7820;

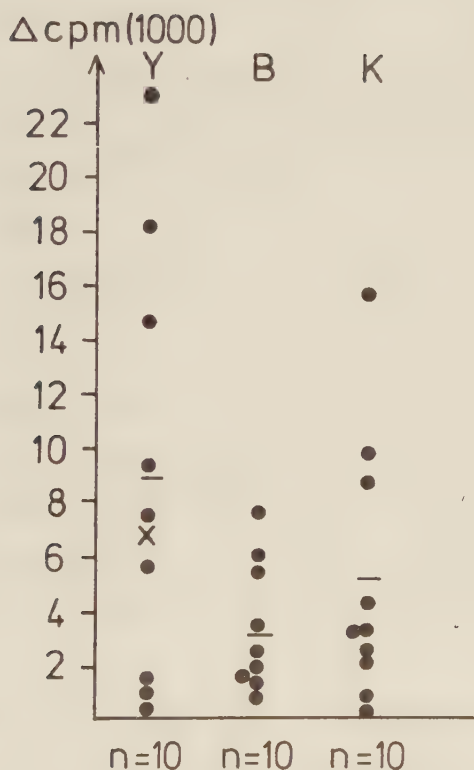
$\bar{x} = 3105$;

Kontrollen:

290, 799, 2242, 2609, 3422, 3462, 4334, 8090, 9903,
15.372;

$\bar{x} = 5292$.

Abb. 7



Ergebnisse der Stimulation peripherer Lymphozyten mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (OH-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. I u. V (Y) (x = Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. V), M. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K). Mittelwerte sind angegeben.

Im statistischen Vergleich (Wilcoxon, Mann, Whitney) ergaben sich zwischen den Stimulationsraten der Testgruppen Unterschiede mit den in der folgenden Tabelle 4 dargestellten Signifikanzniveaus.

Tabelle 4:

Testgruppe 1	Signifikanz-niveau	Testgruppe 2
Y	N. S.	K
Y	$\alpha < 0,10$	D
B	N. S.	K

N. S. = nicht signifikant. Y, D, K siehe Abb. 7

d) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 373 (C-Antigen)

In Abbildung 8 werden die Ergebnisse (in Δ cpm) dargestellt, die sich durch die Stimulation peripherer Lymphozyten von Y. enterocolitica-Arthritis-Patienten, M. Bechterew-Patienten und Kontrollen mit dem C-Antigen von Y. enterocolitica Ye 373 ergaben. Eine Konzentration von 1×10^9 Keimen/ml wurde eingesetzt.

Folgende Stimulationswerte in Δ cpm wurden gemessen:

Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis:

738, 3016, 3155, 6235, 9123, 9350, 11.221, 11.341, 14.046, 18.908, 23.082;

$\bar{x} = 10.010$;

M. Bechterew-Patienten:

10, 879, 912, 1172, 1227, 1337, 1727, 4759, 9517, 10.346;

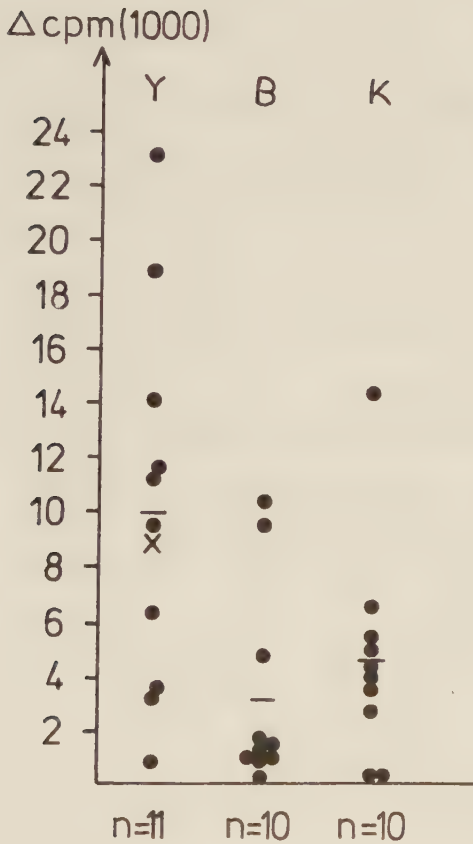
$\bar{x} = 3188$;

Kontrollen:

0, 56, 2643, 3557, 3861, 4182, 4818, 5187, 6457, 14.209;

$\bar{x} = 4505$.

Abb. 8



Ergebnisse der Stimulation peripherer Lymphozyten mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (G-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. I u. V (Y) (x = Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. V), H. Bochterew-Patienten (B) und Kontrollen (K). Mittelwerte sind angegeben.

Im statistischen Vergleich (Wilcoxon, Mann, Whitney) ließen sich zwischen den Stimulationsraten der Testgruppen Unterschiede mit den in der folgenden Tabelle 5 dargestellten Signifikanzniveaus errechnen.

Tabelle 5:

Testgruppe 1	Signifikanzniveau	Testgruppe 2
Y	$\alpha < 0,05$	K
Y	$\alpha < 0,01$	B
B	N. S.	K

N. S. = nicht signifikant. Y, B, K siehe Abb. 3

e) Untersuchungen mit Phytohemagglutinin (PHA)

Zusätzlich zu den Yersinia-Antigen-Präparationen wurde im LTT PHA als T-Lymphocyten stimulierendes Mitogen eingesetzt. Dieses wurde in einer Konzentration von 12,5 µg/ml verwendet.

Dabei wurden folgende Stimulationswerte in cpm gemessen:

Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis:

87.472, 107.006, 112.538, 112.002, 168.009, 105.623, 207.707, 254.331, 236.354, 344.791, 351.186;

$\bar{x} = 199.602$;

M. Dechterew-Patienten:

6744, 32.746, 34.902, 38.017, 92.737, 125.134, 172.179, 253.220, 276.869, 360.880;

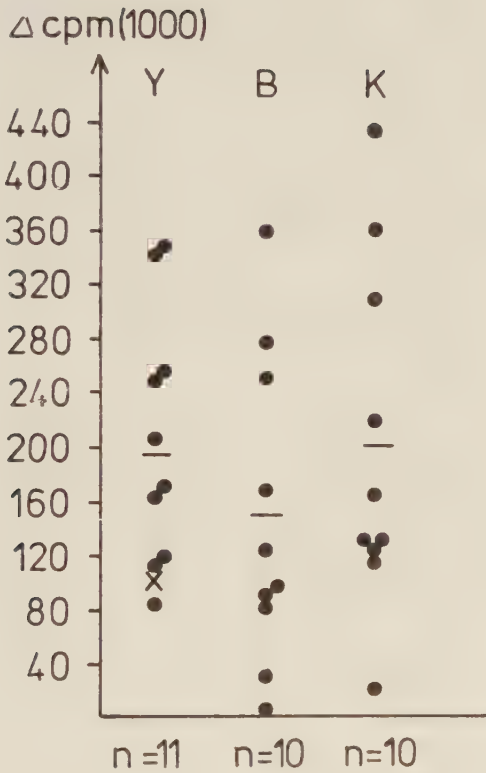
$\bar{x} = 149.543$;

Kontrollen:

23.957, 117.716, 123.616, 120.023, 127.226, 165.502, 220.462, 313.588, 162.401, 434.236;

$\bar{x} = 201.472$.

Abb. 9



Ergebnisse der Stimulation peripherer Lymphozyten mit PHA bei Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis (Y), M. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K). Mittelwerte sind angegeben.

Bei den Untersuchungen mit PHA konnten mit statistischen Methoden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Testgruppen gefunden werden.

2. Migrations-Inhibitions-Test (Clausen-Technik)

Die Abbildung 10 zeigt sämtliche Migrationsindices, die sich durch die mit der Clausen-Technik durchgeführten Versuche errechnen ließen. Aus dieser Abbildung geht hervor, daß sich in Bezug auf das Ausmaß der Migrationshemmung kein Unterschied zwischen den drei Testgruppen feststellen ließ. Auch eine Abhängigkeit der Migrationsinhibition von der Konzentration des Antigens konnte nicht nachgewiesen werden. Im Folgenden werden deshalb alle Migrationsindex-Werte, die sich durch Untersuchungen mit einer Antigenpräparation ergaben, zusammengefaßt.

a) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 75 (OH-Antigen)

In der folgenden Abbildung 11 sind alle Migrationsindices dargestellt, die sich durch Versuche mit Y. enterocolitica Ye 75 (OH-Antigen) bei Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis, Patienten mit M. Bechterew und gesunden Kontrollpersonen ergaben.

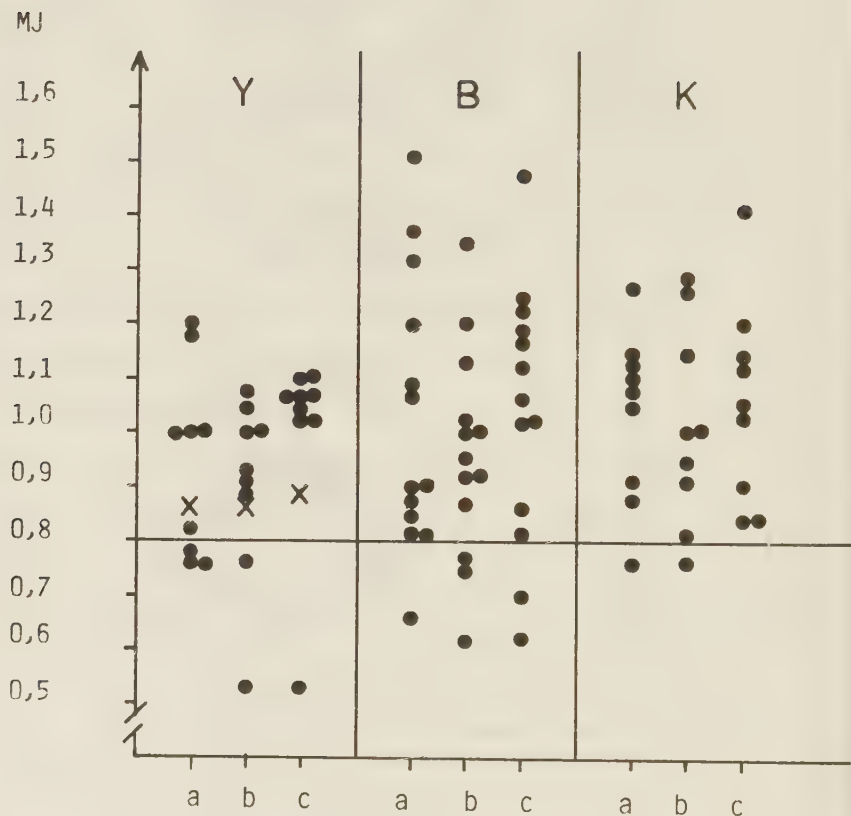
Bei den Patienten mit einer Infektion durch Y. enterocolitica (O-Gr. I und V) lagen 6 von 30 Werten (= 20,0 %) unter 0,8. Wie schon erwähnt, wurden Migrationsindices unter 0,8 als signifikante Migrationshemmung gewertet.

Bei den Ergebnissen der M. Bechterew-Patienten lagen 8 von 39 Werten (= 15,3 %) unter 0,8 und bei den Kontrollen fanden sich 2 von 27 Migrationsindices, die kleiner als 0,8 waren (= 7,4 %).

Diese prozentualen Anteile der Migrationsindices, bei denen sich eine signifikante Migrationshemmung ergab, an der Gesamtzahl der Untersuchungsergebnisse sind in Abbildung 12 dargestellt.

[illegible]

Abb. 11



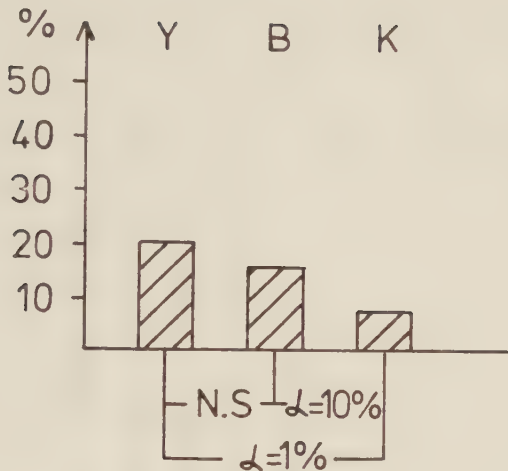
Ergebnisse der Clausen-Technik (Migrationsindices), die sich bei den Versuchen mit *Y. enterocolitica* Ye 75 (OH-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. I u. V (Y) (x = Infektion mit *Y. ent.* O-Gr. V), M. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K) ergaben.

a = $2,4 \times 10^8$ Keime/ml;

b = $2,4 \times 10^6$ Keime/ml;

c = $2,4 \times 10^3$ Keime/ml.

Abb. 12



Frequenzueiler Anteil der Migrationsindizes mit signifikanter Migrationshemmung an der Gesamtzahl der Ergebnisse der Versuche mit Y. ent. Ye 75 (CH-Ag) bei 10 Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis, 13 Patienten mit H. Pschtere und 11 Kontrollen.

Nach dem χ^2 -Vierfeldertest (40) lassen sich aus den prozentualen Anteilen in Migrationsindizes mit signifikanter Migrationsinhibition an der Gesamtzahl der Untersuchungsergebnisse Unterschiede zwischen den Testgruppen mit den in der folgenden Tabelle 6 angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten errechnen.

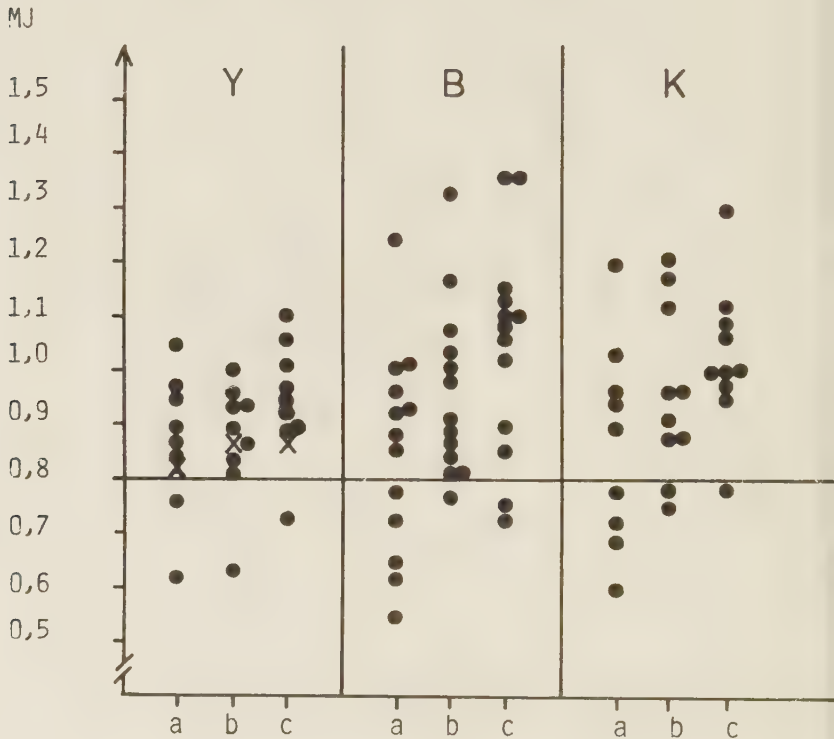
Tabelle 6:

Testgruppe 1	Irrtumswahrscheinlichkeit	Testgruppe 2
Y	$\alpha = 1 \%$	K
Y	N. S.	B
B	$\alpha = 10 \%$	K

N. S. = nicht signifikant; Y, B, K siehe Abb. 11/12

b) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 75 (O-Antigen)

Abb. 13



Ergebnisse der Clausen-Technik (Migrationsindices), die sich bei den Versuchen mit Y. enterocolitica Ye 75 (O-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit Y. ent. O-Gr. I u. V (Y) (x = Infektion mit Y. ent. O-Gr. V), M. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K) ergaben.

a = $2,4 \times 10^8$ Keime/ml;

b = $2,4 \times 10^6$ Keime/ml;

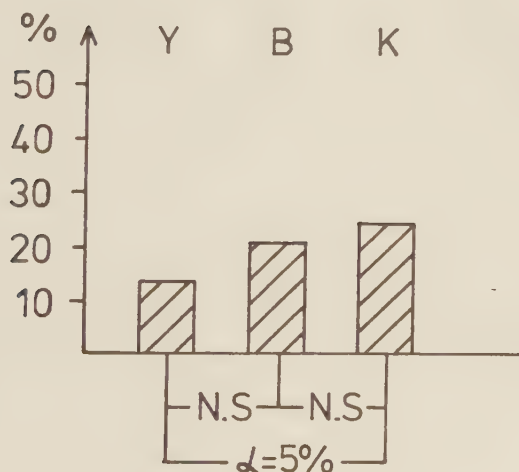
c = $2,4 \times 10^5$ Keime/ml.

Die Abbildung 13 zeigt die Migrationsindizes, die aus den Ergebnissen der Versuche mit *Y. enterocolitica* Ye 75 (C-Antigen) errechnet worden waren.

Bei den Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis lagen 4 von 30 Werten (= 13,3 %) unter 0,8. Bei den Ergebnissen der Patienten mit *M. leishmanii* lagen 3 von 12 Werten (= 25,0 %) unter 0,8. Bei den Kontrollen fand sich bei 7 von 30 Werten (= 23,3 %) eine signifikante Migrationshemmung.

In Abbildung 14 sind die prozentualen Anteile der Migrationsindizes mit signifikanter Migrationshemmung an der Gesamtheit der Ergebnisse der Versuche mit *Y. enterocolitica* Ye 75 (C-Ag) dargestellt (10 Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis, 13 Patienten mit *M. leishmanii*, 10 Kontrollen).

Abb. 14



Nach dem χ^2 -Vierfeldertest ergeben sich zwischen den prozentualen Anteilen der Worte mit signifikanter Migrationsinhibition bezogen auf die Testgruppe der Migrationsindices der drei Testgruppen die in der folgenden Tabelle 7 angegebenen Unterschiede.

Tabelle 7:

Testgruppe 1	Irrtumswahrscheinlichkeit	Testgruppe 2
Y	$\alpha = 5\%$	K
Y	N. S.	B
B	N. S.	K

N. S. = nicht signifikant. Y, B, K siehe Abb. 17/18

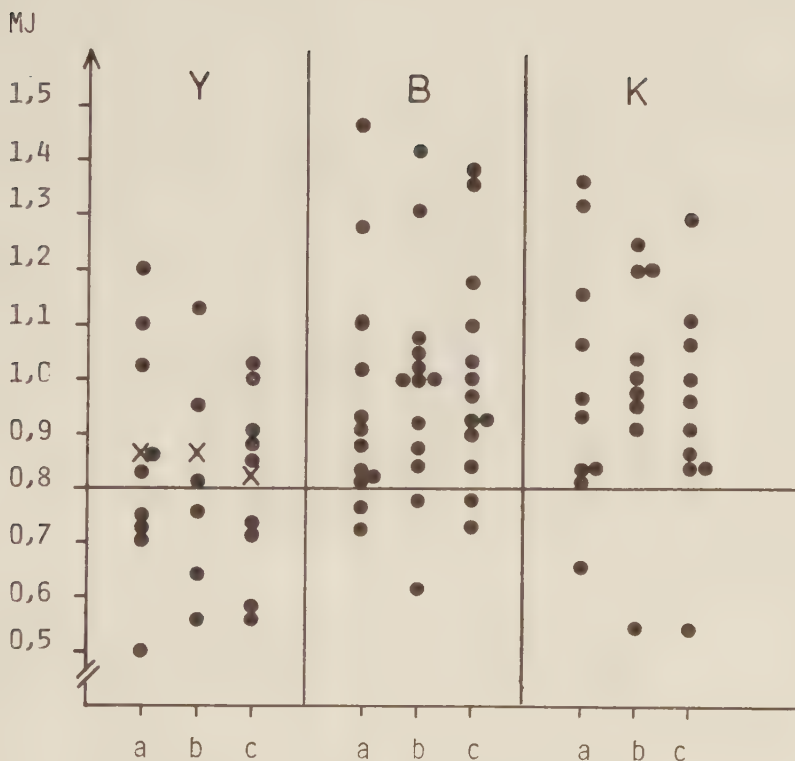
c) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 373 (OH-Ag)

In Abbildung 15 werden die Migrationsindices dargestellt, die sich bei den Versuchen errechnen ließen, die mit Y. enterocolitica Ye 373 (OH-Ag) durchgeführt wurden.

Dabei fand sich bei den Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis bei 11 von 20 Worten (= 55,2 %) eine signifikante Migrationshemmung. Bei den Rheumatoide-Patienten lagen 7 von 30 Worten (= 23,3 %) unter 0,8. Von den in der Kontrollgruppe insgesamt errechneten 29 Migrationsindices lagen 3 (= 10,3 %) unter 0,8.

Abbildung 16 zeigt die Anteile der Migrationsindices mit signifikanter Migrationshemmung in Prozent der Gesamtzahl der Untersuchungen jeweils.

Abb. 15



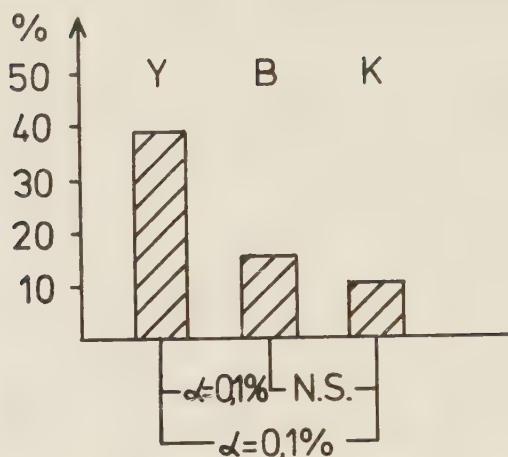
Ergebnisse der Clausen-Technik (Migrationsindices), die sich bei den Versuchen mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (OH-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit *Y. ent. O-Gr. I u. V* (Y) (x = Infektion mit *Y. ent. O-Gr. V*), M. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K) ergaben.

a = 1×10^9 Keime/ml;

b = 1×10^6 Keime/ml;

c = 1×10^3 Keime/ml.

Abb. 16



Prozentualer Anteil der Migrationsindizes mit signifikanter Migrationshemmung an der Gesamtzahl der Ergebnisse der Versuche mit Y. ent. Ye 373 (OII-Ag) bei 10 Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis, 13 Patienten mit M. Dochterew und 10 Kontrollen.

Mit dem χ^2 -Vierfeldertest ließen sich die in der folgenden Tabelle 8 aufgeführten Unterschiede zwischen den prozentualen Anteilen der Werte mit signifikanter Migrationsinhibition bezogen auf die Gesamtzahl der Migrationsindizes der Testgruppen errechnen.

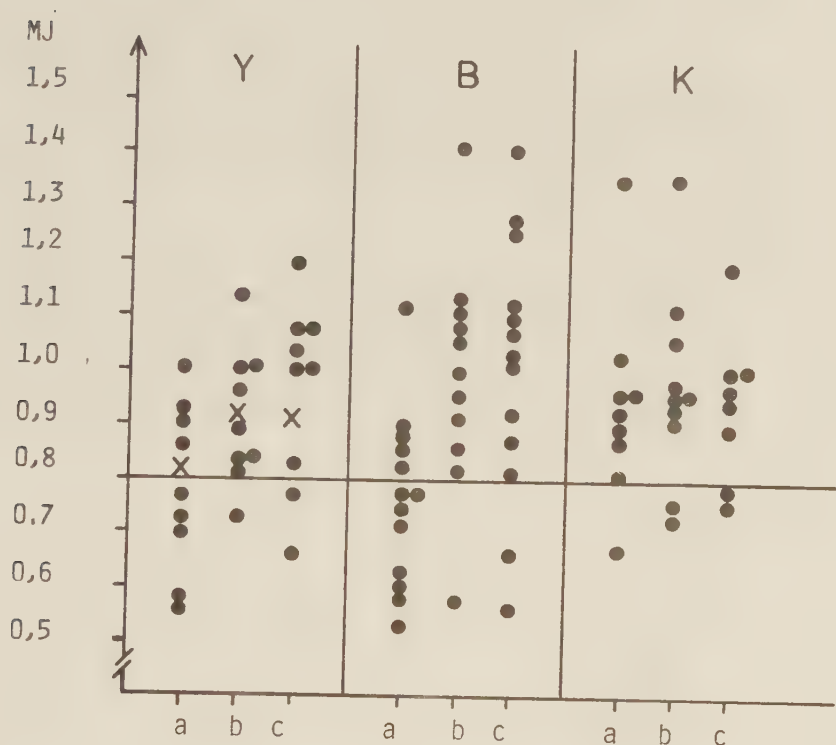
Tabelle 8:

Testgruppe 1.	Irrtums- wahrscheinlichkeit	Testgruppe 2
Y	$\alpha = 0,1 \%$	K
Y	$\alpha = 0,1 \%$	B
B	N. S.	K

N. S. = nicht signifikant. Y, B, K siehe Abb. 15/16

d) Untersuchungen mit Y. ent. Ye 373 (C-Antigen)

Abb. 17



Ergebnisse der Clauson-Technik (Migrationsindizes), die sich bei den Versuchen mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (O-Ag) bei Patienten mit Arthritis induziert durch Infektion mit *Y. ent.* C-Gr. I u. V (Y) (X = Infektion mit *Y. ent.* C-Gr. V), M. Bechterew-Patienten (B) und Kontrollen (K) ergaben.

$$a = 1 \times 10^9 \text{ Keino/al};$$

$b = 1 \times 10^6$ Keime/ml;

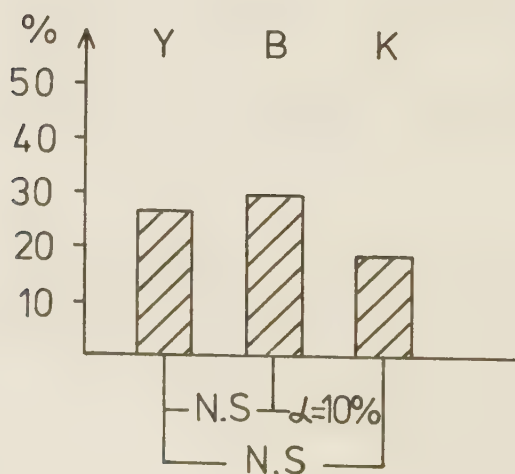
$$c = 1 \times 10^3 \text{ Keime/ml.}$$

In Abbildung 17 sind die Migrationsindizes dargestellt, die sich bei den Versuchen mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (O-Antigen) errechnen ließen.

Bei den mit dieser Antigenpräparation durchgeführten Migrations-Inhibitions-Tests lagen bei der Gruppe der Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis von einer Gesamtzahl von 30 Migrationsindizes 8 (= 26,7 %) unter 0,8. Bei den Patienten mit M. Dechterew wurde bei 11 von 37 Werten (= 29,7 %) eine signifikante Migrationshemmung gefunden und bei den Kontrollen lagen 5 von 27 Werten (= 18,5 %) unter 0,8.

Abbildung 18 zeigt die prozentualen Anteile der Migrationsindizes mit signifikanter Migrationshemmung bezogen auf die Gesamtzahl der Versuchsergebnisse mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (O-Ag) (10 Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis, 15 Patienten mit M. Dechterew, 10 Kontrollpersonen).

Abb. 18



In Tabelle 9 sind die Unterschiede aufgeführt, die sich mit dem χ^2 -Vierfeldertest zwischen den prozentualen Anteilen der Migrationsindices mit signifikanter Migrationshemmung an der Gesamtzahl der Ergebnisse der drei Testgruppen berechnen ließen.

Tabelle 9:

Testgruppe 1	Irrtums- wahrscheinlichkeit	Testgruppe 2
Y	N. S.	K
Y	N. S.	B
B	$\alpha = 10 \%$	K

N. S. = nicht signifikant. Y, B, K siehe Abb. 17/18

In Tabelle 10 a - d werden die im LTT gemessenen Stimulationsraten und die in der Claußen-Technik jeweils kleinsten errechneten Migrationsindices aus den Versuchen mit einer Antigenpräparation des Antikörpertitern der Patienten mit Y. enterocolitica-Arthritis gegen den entsprechenden Serotyp (OH-bzw. O-lactogen) von Y. enterocolitica (s. Tab. 1) gegenübergestellt.

Tabelle 10 a:

Gegenüberstellung der Antikörpertiter gegen Y. enterocolitica O-Gr. I (OH-Ag) mit Stimulationsraten, gemessen im Δcpm, (LTT) und Migrationsindices (Claußen-Technik) aus den Versuchen mit Y. ent. Yo 75 (OH-Ag)

Patient	AK-Titer	Δcpm	MI
1	1: 150	n. u.	0,75
2	1: 150	1540	n. u.
3	1: 150	11174	n. u.
4	1: 150	"	0,57
5	1: 150	15800	>0,9
6	1: 640	1190	>0,9
7	1: 150	771	>0,9
8	1: 1280	7701	>0,9
9	1: 2560	427	0,76
10	1: 2560	10452	n. u.
11	1:10240	10000	0,79
12	-	5034	>0,9

n. u. = nicht untersucht

Tabelle 10 b:

Gegenüberstellung der Antikörpertiter gegen *Y. enterocolitica* O-Gr. I (O-Ag) mit Stimulationstiter, gemessen in Δ cpm, (LTT) u. in Mignette-Indikator (Clausen-Testkit) aus den Versuchen mit *Y. enterocolitica* O-Gr. I (O-Ag)

Patient	AK-Titer	Δ cpm	MI
1	-	n. u.	>0,0
2	1: 40	6000	n. u.
3	1: 40	23570	n. u.
4	1: 40	517	0,63
5	-	21203	>0,0
6	1: 80	2971	>0,0
7	1: 80	2030	>0,0
8	1: 40	5300	>0,0
9	1: 720	3100	>0,0
10	1: 1200	15403	n. u.
11	1: 2500	7370	0,00
12	-	7900	>0,0

n. u. = nicht untersucht

Tabelle 10 c:

Gegenüberstellung der Antikörpertiter gegen *Y. enterocolitica* O-Gr. V (OH-Ag) mit Stimulationsraten, gemessen in Δ cpm, (LTT) und Migrationindices (Clausen-Technik) aus den Versuchen mit *Y. ent. Ye 373* (OH-Ag)

Patient	AK-Titer	Δ cpm	II
1	-	n. u.	0,72
2	-	5706	n. u.
3	-	23302	n. u.
4	-	575	0,5
5	-	n. u.	>0,3
6	-	1164	>0,3
7	-	14346	0,64
8	-	7673	0,76
9	-	1465	0,73
10	-	10115	n. u.
11	-	9423	0,73
12	1: 160	6583	>0,8

n. u. = nicht untersucht

Tabelle 10 d:

Gegenüberstellung der Antikörpertiter gegen Ye. ent. recollitica C-Gr. V (C-Ag) mit Stimulationsraten, gemessen in ΔOD_{550} (LYT) und Migrationsinhibition (Clausen-Toch. III) auf der Verdünnung 1:1000. Ye 373 (C-Ag)

Patient	AK-Titer	ΔOD_{550}	MI
1	-	n. u.	>0,5
2	-	1175	n. u.
3	-	2700	n. u.
4	-	550	0,75
5	-	1000	>0,5
6	-	500	0,75
7	-	11741	0,71
8	-	11001	0,75
9	-	1150	0,7
10	-	10040	n. u.
11	-	1050	0,50
12	-	1125	>0,5

n. u. = nicht untersucht

Eine Korrelation zwischen der jeweiligen Höhe des Antikörper-Titers und der erhaltenen Stimulation bzw. Migrationsinhibition ließ sich bei keiner der verwendeten Antigenpräparationen herstellen.

Diskussion

Bei unseren Untersuchungen ergaben sich im Lymphozyten-Transformations-Test mit allen verwendeten Antigenpräparationen bei den Patienten mit *Yersinia enterocolitica*-Arthritis (Infektion mit *Y. enterocolitica* O-Gr. I und V) signifikant höhere Stimulationswerte als bei den Patienten mit *M. Bechterew*. Auch im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen fanden sich bei den Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis signifikant erhöhte Stimulationsraten bei den Versuchen mit *Y. ent. Ye 75* (OH- und O-Antigen) und *Y. ent. Ye 373* (O-Antigen). Bei den Versuchen mit *Y. ent. Ye 373* (OH-Antigen) konnten bei einem Patienten mit einer Arthritis nach Infektion mit *Y. enterocolitica* O-Gr. I die Ergebnisse aus technischen Gründen nicht verwertet werden. Dieser Patient hatte bei Versuchen mit den anderen Antigenpräparationen sehr hohe Stimulationswerte gezeigt. Da die im U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney errechnete Prüfgröße nur wenig über dem kritischen Wert für das Signifikanzniveau $\alpha = 0,1$ lag, kann man annehmen, daß sich auch bei den Untersuchungen mit *Y. ent. Ye 373* (OH-Antigen) ein deutlicher Unterschied zwischen Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis und Kontrollen ergeben hätte, wenn die Werte des erwähnten Patienten ähnlich hoch ausgefallen wären, wie bei den Versuchen mit den anderen Antigenpräparationen. Die Ergebnisse der Clausen-Technik korrelieren nur teilweise mit denen des Lymphozyten-Transformations-Tests. So ergaben sich nur bei den Versuchen mit den OH-Antigenen von *Yersinia enterocolitica Ye 75* und *Ye 373* in der Gruppe der Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis wesentlich höhere Anteile an Migrationsindices mit signifikanter Migrationshemmung bezogen auf die Gesamtzahl der Untersuchungsergebnisse als in der Gruppe der Kontrollpersonen. Bei den Un-

tersuchungen mit *Y. enterocolitica* Ye 373 (OH-Ag) ließ sich auch zwischen den Ergebnissen der Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis und denen der M. Bechterew-Patienten ein deutlicher Unterschied errechnen. Die mit den O-Antigenen von *Y. enterocolitica* Ye 75 und Ye 373 durchgeführten Versuche ergaben keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Testgruppen. Bei den unter Verwendung von *Y. enterocolitica* Ye 75 (O-Ag) durchgeführten Untersuchungen lag der Anteil der Migrationsindices, die kleiner als 0,8 waren, an der Gesamtzahl der errechneten Werte bei den Kontrollen deutlich höher als bei den Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis.

Bislang liegen keine vergleichbaren Untersuchungen über die zelluläre Immunreaktivität gegenüber *Y. enterocolitica*-Antigenen bei Patienten mit serologisch gesicherter *Y. enterocolitica*-Infektion vor. Es gibt jedoch Arbeiten, in denen über die Stimulation peripherer Lymphozyten mit *Yersinia*-Antigenen bei HLA-B 27-positiven Patienten mit M. Bechterew im Vergleich zu HLA-B 27-positiven und -negativen Kontrollpersonen berichtet wird (50, 51).

So beschreibt Seager, daß sich bei von ihm durchgeführten Untersuchungen bezüglich der in vitro-Proliferation peripherer Lymphozyten nach Stimulation mit *Y. enterocolitica*-Antigen keine signifikanten Unterschiede zwischen M. Bechterew-Patienten und Kontrollen ergaben (50). Im Gegensatz dazu beobachtete Nikbin eine signifikant verminderte Lymphozytenproliferation bei HLA-B 27-positiven Individuen (M. Bechterew-Patienten und Gesunde) gegenüber HLA-B 27-negativen Kontrollen nach Stimulation mit *Yersinia*-Antigenpräparationen (51).

Bei unseren Untersuchungen ergaben sich im Lymphozyten-Transformations-Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den Proliferationsraten der

M. Bechterew-Patienten und der Kontrollen mit allen verwendeten Antigenpräparationen. Die nach dem U-Test errechneten Unterschiede zwischen *Yersinia enterocolitica*-Arthritis-Patienten und M. Bechterew-Patienten waren jedoch durchwegs höher signifikant als die zwischen Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis und Kontrollen.

Nikbin interpretiert seine oben erwähnten Ergebnisse als verminderte T-Zell-Antwort gegenüber *Yersinia*-Antigenen, die zusammen mit HLA-B 27 vererbt wird.

Dieser Meinung können wir uns nicht anschließen, da in der Gruppe der Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis, die ja auch zum überwiegenden Teil Träger von HLA-B 27 waren, mit allen verwendeten *Yersinia*-Antigenpräparationen im LTT eine signifikant höhere in vitro-Proliferation peripherer Lymphozyten beobachtet wurde als bei den Patienten mit M. Bechterew. Auch bei den mit der Clausen-Technik durchgeführten Versuchen ergaben sich bei Verwendung der OH-Antigen-Präparationen höhere prozentuale Anteile an Migrationsindices mit signifikanter Migrationsinhibition bei den Patienten mit Arthritis nach *Y. enterocolitica*-Infektion als bei den Patienten mit M. Bechterew.

Da sich also bei unseren Untersuchungen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Testgruppen, die sich zum überwiegenden Teil aus HLA-B 27-positiven Personen zusammensetzten, ergaben, während sich zwischen M. Bechterew-Patienten und Kontrollen in beiden Testsystemen keine signifikant unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse beobachten ließen, muß man zunächst davon ausgehen, daß unsere Versuchsergebnisse den Nachweis einer normalen Immunreaktivität nach vorausgegangener *Y. enterocolitica*-Infektion darstellen. Die etwas höher liegenden Stimulationsraten in der Gruppe der Kontrollpersonen im Vergleich zu den M. Bechterew-Patienten

könnten dadurch erklärt werden, daß es sich bei den Kontrollpersonen zu einem großen Teil um Angehörige des Krankenhauspersonals handelte. Die Wahrscheinlichkeit eines früher stattgefundenen, serologisch nicht mehr nachweisbaren Kontakts mit *Yersinia*-Antigenen ist in dieser Gruppe sicherlich höher anzusetzen als in der Normalbevölkerung.

Ein Zusammenhang zwischen der Reaktion der peripheren humanen Lymphozyten in unseren Versuchen und dem Vorhandensein von HLA-B 27 scheint also nicht zu bestehen. Um dies jedoch eingehender beurteilen zu können, sollten die Überlegungen berücksichtigt werden, die bisher angestellt wurden, um die besondere Erkrankungsbereitschaft der Träger eines bestimmten HLA-Antigens für bestimmte Krankheiten zu erklären.

Der HLA-Genkomplex stellt den sogenannten Haupt-Histokompatibilitätskomplex des Menschen dar, d. h. die chromosomale Region, die in besonderem Maße für die Immunreaktivität verantwortlich ist. Bisher lassen sich innerhalb dieser Genregion 5 Genloci unterscheiden: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D und HLA-DR. Ihre Genprodukte, die HLA-Antigene, befinden sich als Oberflächenantigene auf den kernhaltigen Zellen des Organismus.

Jeder Mensch besitzt je zwei der verschiedenen HLA-Gene, da er von jedem Elternteil je ein Chromosom, das die HLA-Region enthält erbt. Die HLA-Gene werden miteinander gekoppelt vererbt. Folglich gibt es für die Kinder eines Paares vier verschiedene Möglichkeiten von HLA-Gen-Kombinationen.

Relativ häufig beobachtet man, daß zwei Antigene benachbarter Loci häufiger zusammen auftreten als es nach der Genfrequenz der einzelnen Antigene zu erwarten wäre. Diese Erscheinung bezeichnet man als Kopplungsungleichgewicht (31, 52).

Des Weiteren wurde festgestellt, daß auch andere,

mit dem Histokompatibilitätskomplex in enger Verbindung stehende Gene, die für die Immunantwort gegenüber speziellen Antigenen verantwortlich sind mit einzelnen HLA-Genen in einem deutlichen Kopplungsgleichgewicht stehen. Diese Gene werden als Ir-Gene (immune response) bezeichnet (53).

Auf diesen Beobachtungen baut die sogenannte Zweigen-Theorie von McDevitt und Bodmer auf. Sie besagt, daß die den krankheitsassoziierten HLA-Genen zugeordneten Ir-Gene die eigentlichen Träger der erhöhten Krankheitsbereitschaft sind (54). Die Tatsache, daß nicht alle Träger des jeweiligen HLA-Gens auch das zugehörige Ir-Gen besitzen, böte eine Erklärung dafür, daß nicht alle Personen erkranken, bei denen jenes HLA-Gen nachgewiesen werden kann.

Bislang gelang es allerdings nicht, ein Ir-Genprodukt oder einen Krankheitsempfänglichkeits-Locus zu identifizieren.

Demgegenüber wird von Ebringer die sogenannte Ein-Gen-Theorie oder Kreuztoleranzhypothese vertreten. Diese erklärt die erhöhte Erkrankungsbereitschaft der Träger eines krankheitsassoziierten HLA-Antigens auf Grund von strukturellen Ähnlichkeiten zwischen dem jeweiligen HLA-Antigen und einem infektiösen Agens (55, 56, 57).

Im Falle einer Infektion mit einem derartigen Mikroorganismus produziert der infizierte Organismus zunächst nur eine unzureichende Immunantwort, da er die fremde Struktur zum Teil als eigene erkennt. Der Mikroorganismus kann sich also ungehindert ausbreiten. Die später einsetzenden adäquate Abwehrreaktion besitzt dann nicht nur antimikrobielle Aktivität sondern auch Autoimmunaktivität. Die Kreuztoleranzhypothese fordert daher eine geringe Immunantwort in frühen Krankheitsstadien und eine verspätete hohe Immunreaktion in späteren Stadien der Krankheit (57).

Einige Untersuchungen weisen nun darauf hin, daß das Krankheitsbild des M. Bechterew durch eine Infektion mit *Klebsiella pneumoniae* ausgelöst werden könnte. So wurde *Klebsiella pneumoniae* im Stuhl von Patienten mit aktivem M. Bechterew deutlich häufiger nachgewiesen als bei Patienten mit nicht-aktiver Erkrankung oder bei gesunden Kontrollen (58, 59).

Bei in vitro-Untersuchungen wurde festgestellt, daß periphere Lymphozyten von HLA-B 27-positiven Patienten mit M. Bechterew durch Antigenpräparationen von *Klebsiella pneumoniae* signifikant weniger stark stimuliert werden als die Lymphozyten HLA-B 27-positiver und -negativer Kontrollpersonen (50, 60).

Wenn man annimmt, daß die verminderte Immunreaktion gegenüber *Klebsiella pneumoniae* bei Patienten mit einem aktiven M. Bechterew dadurch bedingt ist, daß ein mit Klebsiellen infizierter Träger von HLA-B 27 auf Grund von strukturellen Ähnlichkeiten zwischen *Klebsiella pneumoniae* und HLA-B 27 im Anfangsstadium der Erkrankung keine ausreichende Immunantwort produzieren kann, so lassen sich diese Untersuchungsergebnisse mit der Kreuztoleranzhypothese vereinbaren.

Die Mehrzahl der von uns untersuchten Patienten mit Arthritis nach *Y. enterocolitica*-Infektion war zum Zeitpunkt unserer Untersuchungen bereits beschwerdefrei. Bei zwei Patienten (N. F. = Patient 2 in Tabelle 10; A. S. = Patient 7 in Tabelle 10) waren nach bereits eingetretener Beschwerdefreiheit erneut Gelenkbeschwerden aufgetreten. Zwei Patientinnen (I. P. = Patient 4 in Tabelle 10; H. E. = Patient 9 in Tabelle 10) hatten seit Krankheitsbeginn (7 Jahre bzw. 2 Jahre vor unserer Untersuchung) ständig unter mehr oder weniger starken Gelenkbeschwerden gelitten. Die Stimulationsraten dieser beiden Patientinnen lagen im Vergleich zu den Ergebnissen der übrigen Patienten mit *Y. enterocolitica*-

Arthritis auffallend niedrig.

Sicherlich ist diese Fallzahl zu klein, um daraus einen eindeutigen Schluß ziehen zu können. Man könnte jedoch annehmen, daß die Beschwerden dieser beiden Patientinnen bestehen blieben, weil eine ausreichende Immunreaktion gegen das *Yersinia enterocolitica*-Antigen ausblieb. Die höheren Stimulationsraten der beschwerdefreien Patienten würden dann auf eine inzwischen erfolgte Immunantwort hinweisen. Das erneute Auftreten von Gelenkbeschwerden nach bereits eingetretener Beschwerdefreiheit ließe sich durch eine mögliche Autoaggressivität der verspätet einsetzenden Immunreaktion erklären, zumal die Stimulationsraten der beiden oben erwähnten Patienten im mittleren bis oberen Bereich innerhalb der Gruppe der Patienten mit *Y. enterocolitica*-Arthritis lagen. Weiteren Untersuchungen an größeren Zahlen von Patienten mit aktiver *Yersinia*-Arthritis wird es vorbehalten bleiben, diese Annahmen zu bestätigen.

Untersuchungen anderer Autoren, die durchgeführt wurden, um weiter abzuklären, ob eine Infektion mit Klebsiellen als Ursache für die Entstehung eines M. Bechterew in Frage kommt, zeigten, daß die Lymphozyten von HLA-B 27-positiven M. Bechterew-Patienten durch bestimmte Klebsiella-Antisera lysiert wurden (50, 60, 61, 62).

Die Lymphozyten HLA-B 27-positiver und -negativer gesunder Kontrollpersonen wurden nicht lysiert. Nach Inkubation mit Klebsiellen bestimmter Stämme wurden jedoch auch die Lymphozyten gesunder Träger von HLA-B 27 lysiert (63). Eine Lyse der Lymphozyten HLA-B 27-positiver M. Bechterew-Patienten durch *Yersinia*-Antisera erfolgte nicht (50, 64).

Sollten weitere von uns geplante Untersuchungen ergeben, daß die Lymphozyten HLA-B 27-positiver Patienten mit Arthritis nach *Yersinia enterocolitica*-Infektion durch *Yersinia*-Antisera lysiert

werden, durch Klebsiella-Antisera jedoch nicht, so wäre das ein Hinweis darauf, daß die Infektion eines Trägers von HLA-B 27 mit Klebsiellen zum M. Bechterew führen kann, während die Infektion eines HLA-B 27-positiven Individuums mit *Yersinia enterocolitica* zum Krankheitsbild der Yersinia-Arthritis führen kann.

Literaturverzeichnis

- 1) CAFFREY M. F. P., JAMES D. C. O.,
Human Lymphocyte Antigen Association in Ankylosing
Spondylitis,
Nature, Vol. 242, S. 121, 1973
- 2) BREWERTON D. A., HART F. D., NICHOLLS A.,
Ankylosing Spondylitis and HL-A 27,
Lancet I, S. 904 - 907, 1973
- 3) SCHLOSSTEIN L., TERASAKI P. I., BLUESTONE R.,
PEARSON C. M.,
High Association of an HL-A Antigen, W 27, with
Ankylosing Spondylitis,
The New England Journal of Medicine, Vol. 288,
S. 704 - 706, 1973
- 4) AHO K., AHVONEN P., LASSUS A., SIEVERS K.,
TIILIKAINEN A.,
HL-A 27 in Reactive Arthritis
A Study of Yersinia Arthritis and Reiter's
Disease,
Arthritis and Rheumatism, Vol. 17, S. 521 - 526,
1974
- 5) AHO K., AHVONEN P., ALKIO P., LASSUS A.,
SAIRANEN E., SIEVERS K., TIILIKAINEN A.,
HL-A 27 in reactive arthritis following infection,
Ann. rheum. Dis., Vol. 34, Supplement p. 29, 1975
- 6) BOTTONE E. J.,
Yersinia enterocolitica: A Panoramic View of a
Charismatic Microorganism,
Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., Vol. 5, S. 211 - 241,
1977

- 7) KNAPP W.,
Yersinia enterocolitica - Yersiniose durch Y. enterocolitica,
(im Druck)
- 8) KNAPP W.,
Yersiniosen,
Med. Welt, Vol. 28, S. 1586 - 1590, 1977
- 9) KNAPP W.,
Enterale Yersiniosen,
Deutsches Arzteblatt, 77. Jahrgang, S. 1671 - 1676, 1980
- 10) KNAPP W., THAL E.,
Untersuchungen über die kulturell-biochemischen, serologischen, tierexperimentellen und immunologischen Eigenschaften einer vorläufig "Pasteurella X" benannten Bakterienart,
Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1 Orig., 190, S. 472 - 482, 1963
- 11) KNAPP W., THAL E.,
Differentiation of Yersinia enterocolitica by Biochemical Reactions,
Contributions to Microbiology and Immunology, Vol. 2, Yersinia, Pasteurella and Francisella, pp. 10 - 16,
Karger Basel 1973
- 12) KNAPP W., THAL E.,
Die biochemische Charakterisierung von Yersinia enterocolitica (syn. "Pasteurella X") als Grundlage eines vereinfachten O-Antigenschemas,
Zbl. Bakt. Hyg., Abt. Orig. A 223, S. 88 - 105, 1973

- 13) KNAPP W., LYSY J., KNAPP Ch., STILLE W., GOLL U.,
Enterale Infektionen beim Menschen durch *Yersinia enterocolitica* und ihre Diagnose,
Infection I, Nr. 2, S. 113 - 125, 1973
- 14) KNAPP W.,
Yersiniosen als Ursachen von entzündlichen Gelenk-
erkrankungen,
Therapiewoche 30, S. 7073 - 7082, 1980
- 15) BLACK R. E., JACKSON R. J., TSAI T., MEDEVSKY M.,
SHAYEGANI M., FEELEY J. C., MACLEOD K. I. E.,
WAKELEE A. M.,
Epidemic *Yersinia Enterocolitica* Infection Due
to Contaminated Chocolate Milk,
The New England Journal of Medicine, Vol. 298,
S. 76 - 79, 1978
- 16) TOIVANEN P., TOIVANEN A., OLKKONEN L., AANTAA S.,
Hospital Outbreak of *Yersinia Enterocolitica*
Infection,
Lancet I, S. 801 - 803, 1973
- 17) KNAPP W.,
Akute Enteritiden mit "neuen" Erregern,
Münch. med. Wschr., Vol. 121, S. 239 - 242,
1979
- 18) WINBLAD S.,
The Clinical Panorama of Human Yersiniosis
enterocolitica,
Contributions to Microbiology and Immunology,
Vol. 2, *Yersinia*, *Pasteurella* and *Francisella*,
pp. 129 - 132,
Karger Basel 1973

- 19) MOSIMANN J., BÜSSER L., STIERLIN W., WIESMANN E.,
Infektionen durch *Yersinia enterocolitica* im
Raum Zürich,
Schweiz. med. Wschr. 107, S. 38 - 42, 1977

- 20) HELANDER I., OLKKONEN L., HOPUSU-HAVU K.,
Yersinia Infection as a cause of Erythema Nodosum,
Z. Haut-Geschl. Kr., 48, S. 399 - 404, 1973

- 21) SEEBACHER C., HILLMANN E., ROITZSCH E.,
KÖSTER P.,
Yersinia enterocolitica, eine Ursache von Ery-
thema nodosum und Erythema exsudativum multi-
forme,
Dermatol. Monatsschr. 164, S. 779 - 785, 1978

- 22) AHVONEN P., SIEVERS K., AHO K.,
Arthritis associated with *Yersinia enterocolitica*
infection,
Acta Rheumatol. Scand., Vol. 15, S. 232 - 253,
1969

- 23) SCHILLING F.,
Yersinia-Arthritis,
Dtsch. med. Wschr. 101, S. 1515 - 1519, 1976

- 24) LAITINEN O., TUUHEA J., AHVONEN P.,
Polyarthritis associated with *Yersinia enterocolitica*
infection,
Ann. rheum. Dis., Vol. 31, S. 34 - 39, 1972

- 25) JACOBS J. C.,
Yersinia enterocolitica Arthritis,
Pediatrics, Vol. 55, S. 236 - 238, 1975

- 26) LAITINEN O., LEIRISALO M., SKYLV G.,
Relation between HLA-B 27 and Clinical Features
in Patients with Yersinia Arthritis,
Arthritis and Rheumatism, Vol. 20, S. 1121 - 1124,
1977
- 27) BREWERTON D. A.,
HLA-B 27 and the Inheritance of Susceptibility
to Rheumatic Disease,
Arthritis and Rheumatism, Vol. 19, S. 656 - 668,
1976
- 28) NOWELL P. C.,
Phytohemagglutinin: An Initiator of Mitosis in
Cultures of Normal Human Leukocytes,
Cancer Research, Vol. 20, S. 462 - 466, 1960
- 29) WEDNER H. J., PARKER C. W.,
Lymphocyte Activation,
Prog. Allergy, Vol. 20, S. 195 - 300, 1976
- 30) PEARMAIN G., LYCETTE R. R., FITZGERALD P. H.,
Tuberculin-induced Mitosis in Peripheral Blood
Leucocytes,
Lancet I, S. 637 - 638, 1963
- 31) PERKINS H. A.,
The Human Major Histocompatibility Complex
(MHC),
in Fudenberg H. H., Stites D. P., Caldwell J. L.,
Wells J. V.,
Basic & Clinical Immunology, S. 181 - 190,
Los Altos, California, 1980
- 32) OPPENHEIM J. J., ROSENSTREICH D. L.,
Signals Regulating in vitro Activation of
Lymphocytes,
Prog. Allergy, Vol. 20, S. 65 - 194, 1976

- 33) HIRSCHHORN K., HIRSCHHORN R.,
Mechanisms of Lymphocyte Activation,
in Mc Cluskey R. T., Cohen S.,
Mechanisms of Cell-Mediated Immunity, S. 115 - 135,
New York 1973
- 34) STITES D. P.,
Clinical Laboratory Methods of Detecting Cellular
Immune Function,
in Fudenberg H. H., Stites D. P., Caldwell J. L.,
Wells J. V.,
Basic & Clinical Immunology, S. 382 - 397,
Los Altos, California, 1980
- 35) RICH A. R., LEWIS M. R.,
The Nature of Allergy in Tuberculosis as
Revealed by Tissue Culture Studies,
Bull. Johns Hopkins Hosp., Vol. 50, S. 115,
1932
- 36) BLOOM B. R., BENNETT B.,
Mechanisms of a Reaction in Vitro Associated
with Delayed-Type Hypersensitivity,
Science, Vol. 153, S. 80 - 82, 1966
- 37) ROCKLIN R. E.,
Mediators of Cellular Immunity,
in Fudenberg H. H., Stites D. P., Caldwell J. L.,
Wells J. V.,
Basic & Clinical Immunology, S. 144 - 155,
Los Altos, California, 1980
- 38) GEORGE M., VAUGHAN J.,
In vitro cell migration as a model for delayed
hypersensitivity,
Proc. Soc. Exp. Biol., Vol. 111, S. 514 - 521,
1962

- 39) DAVID J. R., AL-ASKARI S., LAWRENCE H. S.,
THOMAS L.,
Delayed Hypersensitivity in Vitro,
I. The Specificity of Inhibition of Cell Migration
by Antigens,
J. Immunol., Vol. 93, S. 264 - 273, 1964
- 40) SØRBORG M., BENDIXEN G.,
Human Lymphocyte migration as a parameter of
hypersensitivity,
Acta med. Scand., Vol. 181, S. 247 - 256,
1967
- 41) CARPENTER R. R., BARSALES P. B., GANCHAN R. P.,
Antigen-Induced Inhibition of Cell Migration
in Agar Gel, Plasma Clot and Liquid Media,
J. Reticuloend. Soc., Vol. 5, S. 472 - 483,
1968
- 42) CLAUSEN J. E.,
Tuberculin-induced migration inhibition of
human peripheral leucocytes in agarose medium,
Acta Allergologica, Vol. 26, S. 56 - 80,
1971
- 43) CLAUSEN J. E.,
Comparison between Capillary Tube and Agarose
Migration Technique in the Study of Human
Peripheral Blood Leukocytes,
Acta Allergologica, Vol. 28, S. 145 - 158,
1973
- 44) BØYUM A.,
Separation of leucocytes from blood and bone
marrow,
Scand. J. Clin. Lab. Invest., Vol. 21,
Supplement 97, 1968

- 45) KALDEN J. R., PETER H-H., ROUBIN R.,
CESARINI J. P.,
Human peripheral Null lymphocytes,
I. Isolation, immunological and functional
characterization,
Eur. J. Immunol., Vol. 8, S. 537 - 543, 1977
- 46) CLAUSEN J. E.,
Leukocyte Migration Agarose Technique: Some
Technical Details,
Acta Allergologica, Vol. 28, S. 351 - 364,
1973
- 47) BENDIXEN G., BENDTZEN K., CLAUSEN J. E.,
KJAER M., SØBORG M.,
Human Leucocyte Migration Inhibition,
Scand. J. Immunol., Vol. 5, Supplement 5,
1976
- 48) SACHS L.,
Angewandte Statistik, S. 230 - 236,
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York,
1978
- 49) HORNUNG J.,
Prüfungsfragen Biomathematik, S. 90 - 91,
Verlag Chemie, Weinheim, 1976
- 50) SEAGER K., DASHIR H. V., GECZY A. F.,
EDMONDS J., DE VERE-TYNDALL A.,
Evidence for a specific B 27-associated cell
surface marker on lymphocytes of patients
with ankylosing spondylitis,
Nature, Vol. 277, S. 68 - 70, 1979

- 51) NIKBIN B., BREWERTON D. A., BYROM N., JAMES D. C. O.,
MALKA S., McLEOD L., SLATER L., WARREN R. E.,
HOBBS J. R.,
Lymphocyte function in ankylosing spondylitis,
Ann. Rheum. Dis., Vol. 34, Supplement p. 49 - 52,
1975
- 52) HAHN E.,
Das HLA-System und innere Erkrankungen,
Internist, Vol. 19, S. 491 - 500, 1978
- 53) BENACERRAF B., McDEVITT H. O.,
Histocompatibility-Linked Immune Response
Genes,
Science, Vol. 175, S. 273 - 279, 1972
- 54) McDEVITT H. O., BODMER W. F.,
HL-A, Immune-Response Genes and Disease,
Lancet I, S. 1269 - 1275, 1974
- 55) EBRINGER A., WELSH J., YOUNG C. R.,
Molecular Mimicry as a Pathogenic Mechanism in
Rheumatic Fever,
Heredity, Vol. 37, S. 157, 1976
- 56) EBRINGER A., COWLING P., NGWA SUH N.,
JAMES D. C. O., EBRINGER R. W.,
Crossreactivity between Klebsiella Aerogenes
Species and B 27 Lymphocyte Antigens as an
Aetiological Factor in Ankylosing Spondylitis,
HLA and disease, S. 27, Paris 1976
- 57) YOUNG C. R., EBRINGER A., ARCHER J. R.,
Immune response inversion after hyperimmunisation
Ann. rheum. Dis., Vol. 37, S. 152 - 158,
1978

- 58) EBRINGER R. W., COOKE D., CAWDELL D. R.,
COWLING P., EBRINGER A.,
Ankylosing Spondylitis: Klebsiella and HLA-B 27,
Rheumatology and Rehabilitation, Vol. 16,
S. 190 - 196, 1977
- 59) EBRINGER R. W., CAWDELL D. R., COWLING P.,
EBRINGER A.,
Sequential studies in ankylosing spondylitis,
Ann. rheum. Dis., Vol. 37, S. 146 - 151,
1978
- 60) GECZY A. F., SEAGER K., BASHIR H. V.,
DE VERE-TYNDALL A., EDMONDS J.,
The role of Klebsiella in the pathogenesis of
ankylosing spondylitis. Evidence for a specific
B 27-associated marker on the lymphocytes of
patients with ankylosing spondylitis,
J. Clin. Lab. Immunol., Vol. 3, S. 23 - 28,
1980
- 61) GECZY A. F., YAP J.,
HLA-B 27, Klebsiella and Ankylosing Spondylitis,
Lancet I, S. 719 - 720, 1979
- 62) EDMONDS J., MACAULY D., TYNDALL A., LIEW M.,
ALEXANDER K., GECZY A., BASHIR H.,
Lymphocytotoxicity of Anti-Klebsiella Antisera
in Ankylosing Spondylitis and Related Arthro-
pathies,
Arthritis and Rheumatism, Vol. 24, S. 1 - 7,
1981
- 63) GECZY A. F., ALEXANDER K., BASHIR H. V.,
EDMONDS J.,
A factor(s) in Klebsiella culture filtrates
specifically modifies an HLA-B 27-associated
cell-surface component,
Nature, Vol. 283, S. 782 - 784, 1980

- 64) PEASE P., ENGLAND J., TYLER R., MACKINTOSH P.,
HLA-B 27, *Yersinia enterocolitica* and ankylosing
spondylitis,
Ann. rheum. Dis., Vol. 39, S. 415 - 416, 1980

Danksagung

Bedanken möchte ich mich in erster Linie bei Herrn Prof. Dr. J. R. Kalden, dem Vorstand des Instituts für klinische Immunologie und Rheumatologie der Universität Erlangen, für die Stellung des Themas und die gute Betreuung bei der Durchführung der Arbeit.

Ich danke Herrn Prof. Dr. W. Knapp, dem Vorstand des Instituts für klinische Mikrobiologie und Infektionshygiene der Universität Erlangen, für die von ihm zur Verfügung gestellten Yersinia-Antigenpräparationen und seine Beratung.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern aus dem Labor des Instituts für klinische Immunologie, die mich bei der Durchführung der praktischen Arbeiten unterstützt haben, besonders Frau H. Leowald.

Schließlich bedanke ich mich bei allen Patienten und allen, die sich als Kontrollpersonen für meine Untersuchungen zur Verfügung gestellt haben.

Lebenslauf

Geb. 31. 05. 1955 in Amberg

Vater: Hans Albert Oertel, Realschuldirektor, gest. 1981

Mutter: Irma Oertel, Lehrerin

Schulen: Pestalozzi-Schule, Coburg, 09. 1961 - 07. 1963
Volksschule Heilsbronn, 09. 1963 - 07. 1965
Theresien-Gymnasium, Ansbach,
(neusprachlich) 09. 1965 - 06. 1974

Universitätsstudium:

Germanistik und Romanistik

(Universität München) 11. 1974 - 04. 1975

Humanmedizin

(Universität Erlangen) 05. 1975 - 05. 1981

Approbation als Arzt 08. 05. 1981

Von Juli bis Dezember 1981 arbeitete ich als Assistenz-ärztin am Institut und Poliklinik für klinische Immunologie und Rheumatologie der Universität Erlangen.

Seit Januar 1982 arbeite ich als Assistenzärztin in der III. Medizinischen Klinik des Allgemeinen Krankenhauses Bamberg.

